

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
ARIANE CHARAOUI

MÉCANISMES ENDOCRINIENS IMPLIQUÉS DANS L'ISOLEMENT
REPRODUCTEUR DE DEUX ÉCOTYPES D'OMBLE DE FONTAINE

MARS 2013

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

COMITÉ D'ÉVALUATION

Directeur

Pierre Magnan (Ph. D.)
Chaire de recherche du Canada en écologie des eaux douces
Centre de recherche sur les interactions bassins versants - écosystèmes aquatiques
(RIVE)
Département chimie-biologie
Université du Québec à Trois-Rivières
Trois-Rivières (Québec)
G9A 5H7

Co-directrice

Céline Audet (Ph. D.)
Institut des sciences de la mer à Rimouski
Université du Québec à Rimouski
Rimouski (Québec)
G5L 3A1

Membre du comité d'évaluation

Hélène Glémet (Ph. D.)
Centre de recherche sur les interactions bassins versants - écosystèmes aquatiques
(RIVE)
Département chimie-biologie
Université du Québec à Trois-Rivières
Trois-Rivières (Québec)
G9A 5H7

Maria-Grazia Martinoli (Ph. D.)
Groupe de recherche en neuroscience
Département chimie-biologie
Université du Québec à Trois-Rivières
Trois-Rivières (Québec)
G9A 5H7

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier en premier lieu mes directeur(e)s Pierre Magnan et Céline Audet qui m'ont confié un projet des plus intéressants. J'ai beaucoup apprécié leur soutien exceptionnel tout au long de ma maîtrise. Les nombreuses discussions que nous avons eues m'ont été très enrichissantes.

Je remercie également mes aides de terrain Hubert Plamondon, Gabriel Pépin, David Schelling, Samuel Bourque et Mariem Naoui, dont leur participation a été indispensable lors des campagnes d'échantillonnage. Merci à Michel Plante et François Auger pour leur soutien dans l'organisation logistique des sorties terrains au Parc national de la Mauricie, ainsi que leurs nombreux conseils. Merci à Chantal Fournier, Renée Gagnée et Véronique Boily pour la logistique du matériel de terrain et de laboratoire.

Un merci spécial à Andrea Bertolo pour les analyses statistiques. Merci à mes collègues de laboratoire Marc Pépino, Katherine Goyer, Philippe Massicotte, Hamza Seghouani et Amélie Crespel pour les nombreuses discussions que nous avons eu en relation avec mon projet, le partage de leurs connaissances ainsi que leur amitié.

Je remercie également Hélène Glémet et Maria-Grazia Martinoli pour leur collaboration durant les séminaires I et II.

Enfin, je remercie chaleureusement ma famille qui m'a toujours grandement encouragée et appuyée durant mon cheminement.

AVANT-PROPOS

Ce mémoire effectué dans le cadre du programme de maîtrise en sciences de l'environnement présente la synthèse de mes recherches sur l'omble de fontaine au cours des années 2009 à 2012. Le but du projet était de vérifier l'hypothèse que la maturation des gonades est plus précoce chez les individus de l'écotype littoral comparativement à celle des individus de l'écotype pélagique durant la saison de croissance, en raison du bilan thermique estival qui est présumé être plus élevé chez les individus de l'écotype littoral.

Ce document comprend deux chapitres, dont le premier constitue une revue de littérature exhaustive, ainsi qu'une description abrégée des sections matériel et méthodes, résultats et discussion de l'étude. Certains éléments non traités dans le chapitre II ont également été ajoutés afin de transmettre les connaissances qui pourraient être utiles aux personnes qui poursuivront les travaux.

Le deuxième chapitre présente les résultats complets de l'étude sous forme d'article scientifique. L'auteur du mémoire a participé à l'élaboration du protocole de recherche, a procédé aux travaux sur le terrain et en laboratoire, a réalisé les analyses statistiques et a rédigé la première version de l'article scientifique dans son intégralité. Des révisions ont été apportées suite aux commentaires des co-directeurs et des évaluateurs du mémoire.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	x
CHAPITRE I	
INTRODUCTION.....	1
1.1 Rétrospective de la littérature	1
1.1.1 Polymorphisme associé aux ressources	1
1.1.2 Maturation des gonades chez les poissons.....	4
1.1.3 Objectifs.....	8
1.2 Matériel et méthodes	8
1.2.1 Capture des poissons.....	8
1.2.2 Prélèvement des échantillons biologiques	10
1.2.3 Dosage d'hormones et de la VTG.....	10
1.2.4 Analyses morphométriques.....	11
1.2.5 Analyses statistiques	12
1.2.6 Analyses complémentaires à celles présentées au chapitre II.....	12
1.3 Résultats.....	13
1.3.1 Dosage d'hormones et de la VTG.....	13
1.3.2 Analyses morphométriques.....	14
1.3.3 Analyses complémentaires à celles présentées au chapitre II.....	15
1.4 Discussion.....	26
1.4.1 Contribution scientifique de l'étude	26
1.4.2 Limite de l'étude.....	26
1.4.3 Perspectives futures	27
CHAPITRE II	
ARTICLE SCIENTIFIQUE	28
Résumé.....	29

Abstract	30
Introduction	31
Material and Methods	33
Study lakes.....	33
Fish sampling.....	33
Blood sampling and assays.....	34
Morphological analysis.....	34
Statistical analysis.....	35
Results	37
Hormonal status	37
Morphological analysis.....	38
Discussion	40
Hormonal status	40
Morphological analysis.....	42
Conclusion	44
Acknowledgements	45
References	46
Figures captions	52
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	70
ANNEXE A	
SCHÉMA DE L'AXE HYPOTHALAMUS-HYPOPHYSE-GONADES (ADAPTÉ DE REDDING ET PATINO 1993, YARON ET SIVAN 2006).....	76
ANNEXE B	
SUCCÈS DE PÊCHE PAR ENGIN DE TOUS LES POISSONS CAPTURÉS LORS DE L'ÉTUDE	77
ANNEXE C	
LOCALISATION DES ZONES DE CAPTURE DES OMBLES DE FONTAINE POUR LES LACS WABER (2009-2010) ET LEDOUX (2010).....	78
ANNEXE D	
EXEMPLE DU MONTAGE DES SPÉCIMENS POUR LES ANALYSES MORPHOMÉTRIQUES.....	79

LISTE DES TABLEAUX

Tableau		Page
1.1	Coefficients canoniques et moyennes ajustées pour les 11 traits mesurés pour les deux écotypes chez les mâles et les femelles capturés avant et pendant la période de reproduction (frayère) pour le lac Waber en 2009.	23
1.2	Coefficients canoniques et moyennes ajustées pour les 11 traits mesurés pour les deux écotypes chez les mâles et les femelles capturés avant et pendant la période de reproduction (frayère) pour le lac Waber en 2010.	24
1.3	Coefficients canoniques et moyennes ajustées pour les 11 traits mesurés pour les deux écotypes chez les mâles et les femelles capturés avant et pendant la période de reproduction (frayère) pour le lac Ledoux en 2010....	25

LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1.1	Scores canoniques moyens d'une analyse en composantes principales (ACP) sur les mesures des caractères morphologiques des ombles de fontaine du lac Ledoux de 2000 à 2007 (longueurs des nageoires pectorales et dorsale, et hauteur du pédoncule caudal) (Magnan <i>et al.</i> , en préparation).....	4
1.2	Concentrations plasmatiques de cortisol mesurées chez les ombles de fontaine capturés avec différents engins de pêche au lac Waber en 2009.....	14
1.3	Scores canoniques des axes 1 et 2 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Waber pendant la période de reproduction en 2009	16
1.4	Scores canoniques des axes 1 et 3 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Waber pendant la période de reproduction en 2009	17
1.5	Scores canoniques des axes 1 et 2 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Waber pendant la période de reproduction en 2010	18
1.6	Scores canoniques des axes 1 et 3 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Waber pendant la période de reproduction en 2010	19
1.7	Scores canoniques des axes 1 et 2 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Ledoux pendant la période de reproduction en 2010	20

1.8	Scores canoniques des axes 1 et 2 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Ledoux pendant la période de reproduction en 2010	21
1.9	Scores canoniques d'une analyse discriminante basée sur la longueur des 11 traits mesurés pour les deux écotypes chez les mâles (gauche) et les femelles (droite) capturés sur la frayère pendant la période de reproduction (frayère) pour a) le lac Waber en 2009, b) le lac Waber en 2010 et c) le lac Ledoux en 2010	22

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

11-KT	11-Céto-testostérone
E ₂	17β-Estradiol
FSH	Hormone gonadotrope (hormone folliculostimulante)
GnRH	Gonadolibérine (hormone de libération hypothalamique)
LH	Hormone gonadotrope (hormone lutéinisante)
MIH	Hormone inductrice de la maturation
T	Testostérone
VTG	Vitellogénine

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 Rétrospective de la littérature

1.1.1 Polymorphisme associé aux ressources

Les milieux lacustres offrent généralement deux habitats distincts, soit l'habitat littoral en eau peu profonde et l'habitat pélagique en eau profonde. Lorsque deux espèces cohabitent, elles colonisent habituellement des niches écologiques différentes, chacune étant adaptée à son habitat respectif. Par exemple, lorsque le crapet-arlequin (*Lepomis macrochirus*) cohabite avec le crapet-soleil (*Lepomis gibbosus*), le premier, étant généraliste, se nourrit de zooplancton dans l'habitat pélagique, alors que le second, étant spécialiste pour broyer les proies à corps dur, exploite l'habitat littoral (Robinson *et al.*, 1993). Cependant, l'étude de Robinson *et al.* (1993) a montré que lorsque le crapet-soleil était la seule espèce présente dans un lac, celle-ci était présente sous deux écotypes, l'une occupant l'habitat littoral, et l'autre, l'habitat pélagique. L'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) du lac volcanique Thingvallavatn situé en Islande est aussi connu pour présenter ce phénomène en raison de l'absence de compétiteurs interspécifiques et de la disponibilité de niches écologiques vacantes. Jusqu'à quatre écotypes coexistent dans ce lac (Skúlason & Smith, 1995), soit deux littoraux, la petite forme littorale et la grande forme littorale, ainsi que deux pélagiques, la forme zooplanctivore et la forme piscivore (Sandlund *et al.*, 1992). Cette spécialisation d'individus d'une même espèce pour un habitat particulier constitue ainsi le phénomène de polymorphisme associé aux ressources.

Le polymorphisme associé aux ressources est très répandu chez les vertébrés (Skúlason & Smith, 1995) et son importance a longtemps été sous-estimée dans le cheminement évolutif des espèces (Smith & Skúlason, 1996). Dans les lacs de

l'hémisphère nord, les écotypes sympatriques évoluent face à la compétition intraspécifique pour les ressources entre des individus qui sont phénotypiquement semblables (Skúlason & Smith, 1995). La spécialisation de ceux-ci pour un habitat et une ressource particulière permet alors de diminuer cette compétition, et engendre l'apparition de différences morphologiques au sein de l'espèce (Skúlason & Smith, 1995; Smith & Skúlason, 1996). Les écotypes peuvent différer au niveau des dimensions de la mâchoire, des branchies, de la longueur des nageoires, de la forme du corps, et des structures de l'estomac et des intestins. Toutes ces différences sont directement liées à l'alimentation et à l'utilisation d'un habitat particulier (Skúlason & Smith, 1995). Plusieurs autres différences apparaissent au niveau du comportement, des traits du cycle vital, et de la coloration (Smith & Skúlason, 1996).

Il existe deux types de polymorphisme associés aux ressources chez les poissons. Le premier est de type contrastant, où les différences entre les écotypes sont très apparentes, ce qui permet de les distinguer par un simple examen visuel. Le second est de type subtil, où les différences ne peuvent être détectées que par des mesures morphologiques et des analyses statistiques. Des études précédentes ont montré que l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) présente un dimorphisme subtil associé à l'usage d'habitats différents dans certains lacs du Bouclier canadien. L'écotype littoral qui se nourrit de zoobenthos (Bourke *et al.*, 1999) utilise les eaux peu profondes (0 à 2 m) (Venne & Magnan, 1995; Bourke *et al.*, 1997), possède des nageoires pectorales longues (Bourke *et al.*, 1997; Dynes *et al.*, 1999; Proulx & Magnan, 2002) et un corps trapu qui lui permet de manœuvrer afin de capturer ses proies dans le substrat et sur la végétation aquatique (Sacotte & Magnan, 2006). Quant à l'écotype pélagique qui se nourrit de zooplancton (Bourke *et al.*, 1999) et utilise les eaux profondes (3 à 6 m) (Venne & Magnan, 1995; Bourke *et al.*, 1997), il possède des nageoires pectorales courtes (Bourke *et al.*, 1997; Dynes *et al.*, 1999; Proulx & Magnan, 2002) et un corps fusiforme afin d'être efficace lorsqu'il se nourrit dans la colonne d'eau (Marchand *et al.*, 2003). Autres que les habitudes alimentaires, la morphologie et l'utilisation d'habitats distincts, cette spécialisation est également confirmée chez l'omble de fontaine par la présence des différences au niveau des performances physiologiques (Proulx & Magnan,

2002; Rouleau *et al.*, 2009), des comportements de quête alimentaire (Sacotte & Magnan, 2006), et de l'occurrence de parasites spécifiques (Bertrand *et al.*, 2008).

L'étude de Magnan *et al.* (en préparation) menée pendant sept ans sur la population d'omble de fontaine du lac Ledoux révèle une distribution morphologique bimodale dans l'arrivée des géniteurs des deux écotypes sur le site de frai (Figure 1.1). Les individus littoraux frayent majoritairement pendant les deux premières semaines de la période de reproduction alors que les individus pélagiques frayent pendant les deux dernières semaines. Malgré un chevauchement de la présence des deux écotypes au milieu de cette période, ces résultats suggèrent un isolement reproducteur temporel qui, à plus long terme, pourrait engendrer la spéciation. Des expériences sur le terrain ont montré que les individus littoraux de cette même population passaient plus de temps en eaux chaudes (Marchand *et al.*, 2003) et qu'ils possédaient un préférendum thermique plus élevé que les individus pélagiques (Marchand, 2000). Une étude sur les habitats thermiques estivaux a aussi confirmé que les individus littoraux sélectionnaient des températures plus chaudes la nuit durant l'été (Adams, 2005). Récemment, un suivi télémétrique a révélé la présence de patrons thermiques chauds et froids chez les individus du lac Ledoux. Les patrons chauds seraient possiblement associés à des individus de l'écotype littoral qui effectueraient des excursions dans les eaux peu profondes et chaudes pour s'alimenter (Bertolo *et al.*, 2011). Si tel est le cas, l'exposition des individus de l'écotype littoral à des températures plus chaudes pendant la saison de croissance pourrait avoir des conséquences sur certains processus physiologiques comme la maturation des gonades, expliquant ainsi leur arrivée hâtive sur le site de frai.

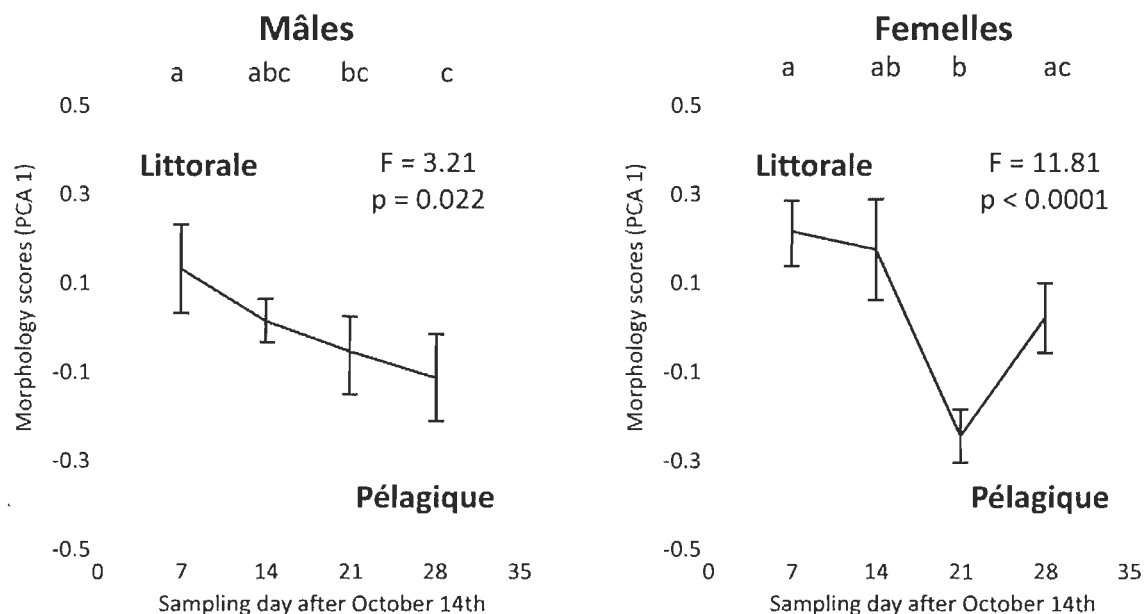


Figure 1.1 Scores canoniques moyens d'une analyse en composantes principales (ACP) sur les mesures des caractères morphologiques des ombles de fontaine du lac Ledoux de 2000 à 2007 (longueurs des nageoires pectorales et dorsale, et hauteur du pédoncule caudal) (Magnan *et al.*, en préparation).

1.1.2 Maturation des gonades chez les poissons

L'activité endocrinienne chez les poissons des régions tempérées s'étend sur un cycle annuel. Les différentes étapes dans le cycle reproducteur correspondent à la préparation pour la reproduction, la reproduction et une période quiescente post-reproduction (Crim, 1982). Chez l'omble chevalier, des changements saisonniers distincts dans les concentrations plasmatiques de stéroïdes sont présents autant chez les mâles que chez les femelles (Tveiten *et al.*, 1998). Des études ont permis de relier les variations de concentrations plasmatiques d'hormones stéroïdiennes avec les stades de maturation des gonades (Frantzen *et al.*, 1997). Il existe aussi un cycle journalier d'activité endocrinienne qui serait dû au cycle jour-nuit (Crim, 1982).

La maturation des gonades est un processus qui devance grandement la période de reproduction chez les salmonidés (King *et al.*, 2003). Chez l'omble de fontaine, l'été

correspond à la période de développement rapide des gonades (Power, 1980; Tam *et al.*, 1986) puisque ceux-ci se reproduisent à l'automne (Power 1980). Chez les poissons la régulation de ce processus physiologique est dépendant d'un contrôle hormonal de l'axe hypothalamus-hypophyse-gonades (Annexe A) (Redding & Patino, 1993; Nagahama, 1994; Barannikova *et al.*, 2004; Rocha & Rocha, 2006). Plus précisément, les neurones sécrétoires qui composent l'hypothalamus répondent à un stimulus du milieu (photopériode, température, cycle lunaire), en transmettent cette information via la libération de neuro-hormones. Celles-ci activent une zone de l'hypophyse, soit l'adénohypophyse, qui à son tour libère des hormones. L'adénohypophyse synthétise, accumule et relâche plusieurs types d'hormones, qui activent la production de stéroïdes sexuels nécessaires au développement des gonades (Rocha & Rocha, 2006).

La gonadolibérine, hormone de libération hypothalamique (GnRH *Gonadotropin Releasing Hormone*, LHRH, LH *Releasing Hormone*) provenant de l'hypothalamus, stimule la sécrétion de l'hormone folliculostimulante (FSH, *Follicle-Stimulating Hormone*) et de l'hormone lutéinisante (LH, *Luteinizing Hormone*) par l'adénohypophyse, à différent moment du cycle de maturation (Mellinger, 2002). Ces deux hormones glycoprotéiques, qui augmentent l'activité des gonades mâles (testicules) et femelles (ovaires) (Rocha & Rocha, 2006), se nomment aussi gonadotrophines ou hormones gonadotropes (GtH) (Mellinger, 2002). Les gonadotrophines agissent indirectement sur la gamétogenèse par la stimulation de biosynthèse d'hormones stéroïdiennes (Nagahama, 1994). La FSH agit sur la formation et la croissance des follicules ovariens pendant la vitellogenèse et augmente la production des spermatozoïdes (augmentation de la concentration plasmatique de la FSH pendant ces phases et diminution pendant le frai). La LH agit plutôt sur la maturation finale des gonades par une augmentation drastique de sa concentration plasmatique au moment du frai. La circulation de FSH et LH permet d'activer la synthèse dans les gonades de trois types de stéroïdes, soit les androgènes, les œstrogènes et les progestatifs (Campbell, 1995) qui régulent leur développement, l'apparition de caractères sexuels secondaires et les comportements liés à la reproduction (Fostier *et al.*, 1983; Bond, 1996). Certaines hormones stéroïdiennes comme la 17,20 β -dihydroxy-4-pregen-3-one (17,20 β -P)

possèdent le rôle spécifique d'hormones inductrices de la maturation (MIH, *Maturation Inducing Hormone*, MIS, *Maturation Inducing Steroid*) et l'augmentation de leur concentration est indispensable pour terminer la maturation (Mellinger, 2002). L'augmentation de la LH pendant le frai permet de changer la production d'androgènes chez les mâles et d'œstrogène chez les femelles pour synthétiser la MIH chez les deux sexes (Rocha & Rocha, 2006).

Chez les mâles, la FSH stimule la production d'une hormone stéroïdienne par les cellules de Leydig (Rocha & Rocha, 2006), soit la testostérone (T). Celle-ci peut ensuite être transformée en 11-céto-testostérone (11-KT), qui correspond à l'androgène dominant chez les mâles pendant la reproduction. La 11-KT régule le développement des testicules et les comportements sexuels (Tveiten *et al.*, 1998; Barannikova *et al.*, 2004). Chez les femelles, la FSH stimule aussi la production de T par les cellules de la thèque (enveloppe folliculaire) sous l'action de l'hypophyse (Nagahama, 1994). La T qui est produite peut ensuite être transformée en 17β -œstradiol (E_2) (Barannikova *et al.*, 2004) dans les cellules de la granulosa (couche de cellules folliculeuses) (Nagahama, 1994). La E_2 constitue l'œstrogène dominant chez les femelles (Mellinger, 2002; Barannikova *et al.*, 2004). Son action principale est de stimuler la vitellogenèse, c'est-à-dire la production d'une lipoprotéine par le foie nommée vitellogénine (VTG). La VTG est ensuite modifiée par l'enzyme cathepsine D pour devenir du vitellus lipoprotéique (substance organique nécessaire pour la nutrition de l'embryon et de la larve vésiculée) à l'intérieur de l'ovocyte (Mellinger, 2002). L'accroissement de l'ovocyte est rendu possible grâce à l'accumulation du vitellus qui est acheminé du foie aux ovocytes par le sang (Mellinger, 2002). Chez plusieurs salmonidés, l'augmentation de la concentration plasmatique en E_2 est corrélée avec la croissance des ovocytes pendant la vitellogenèse (Fostier *et al.*, 1983; Nagahama, 1994).

La reproduction chez les téléostéens est influencée par plusieurs facteurs environnementaux qui modifient l'activité endocrinienne (Rocha & Rocha, 2006). Cette information est transmise aux gonades directement par le système endocrinien. Selon McCormick et Naiman (1984), le taux de croissance, l'âge et particulièrement la taille,

qui est différente entre les mâles et les femelles, sont des facteurs importants pour la maturation de l'omble de fontaine. Le moment et le degré de maturité sont aussi influencés par la photopériode et l'alimentation. Les cycles lunaires synchronisent aussi l'activité endocrinienne pour la maturation des gonades et le frai (Rocha & Rocha, 2006). La température a également un effet important sur la spermatogenèse et l'ovogenèse (VanDerKraak & Pankhurst, 1997). Des températures anormalement élevées sont très nocives pour le développement des gonades (VanDerKraak & Pankhurst, 1997). Des températures trop élevées causent l'inhibition de l'ovulation chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (Pankhurst *et al.*, 1996) et chez l'omble chevalier (Gillet, 1991). Les derniers stades de maturation sont particulièrement influencés par la température (Newell & Quinn, 2005). Newell et Quinn (2005) ont suggéré que le saumon sockeye (*Oncorhynchus nerka*) sélectionne des températures propices à la maturation finale des gonades.

Par ailleurs, l'effet d'augmentation de la température sur les phases antérieures de la gamétogenèse (sans tenir compte des températures anormalement élevées) est plutôt contradictoire à l'effet sur la maturation finale des gonades (Breton *et al.*, 1980). Plusieurs études ont montré qu'une hausse de la température de l'eau favorise la maturation des gonades chez les poissons. Lorsque la température augmente, l'hypophyse qui amplifierait sa réponse aux GtH, comme chez le poisson rouge (*Carassius auratus*) où l'élévation de la température d'élevage stimule la sécrétion de GtH (Gillet & Billard, 1977). Chez la tanche (*Tinca tinca*), la spermatogenèse peut être devancée par une augmentation de la température, en plus de prolonger la période de reproduction (Breton *et al.*, 1980). Chez cette même espèce, des températures élevées accélèrent l'accroissement des ovaires chez les femelles (Breton *et al.*, 1980). Une étude sur le nombre d'événements de reproduction des femelles crapet-soleil soumises à deux régimes de température (étangs non-chauffés et étangs chauffés de 2-3 °C de plus) a révélé que celles provenant d'étangs chauffés avaient atteint le maximum d'événements de reproduction deux semaines avant celles provenant des étangs non-chauffés (Zieba *et al.*, 2010). Les femelles du régime plus chaud avaient donc une reproduction précoce par rapport à celles provenant des étangs non-chauffés. King *et al.*

(2003) ont trouvé des résultats concordants chez le saumon atlantique (*Salmo salar*). Le suivi du développement des gonades de femelles soumises à trois régimes de température (14, 18 et 22 °C) a montré que 80 % des femelles maintenues à 22 °C avaient ovulé, alors qu'il a fallu 7 et 17 jours de plus pour atteindre le même résultat chez les femelles maintenues à 14 et 18 °C respectivement. En milieu naturel, l'augmentation de la température de l'eau (2-3 °C) provoquée par les affluents d'eaux chaudes d'une centrale nucléaire dans la rivière Meuse a engendré une accélération du cycle de reproduction du gardon (*Rutilus rutilus*) et a devancé la période de frai d'environ 20 jours (Mattheeuws *et al.*, 1981).

1.1.3 Objectifs

Comme le bilan thermique estival des individus de l'écotype littoral est présumé être plus élevé que celui des individus de l'écotype pélagique, l'objectif principal de cette étude a été de vérifier l'hypothèse que l'écotype littoral possède une maturation des gonades plus précoce que l'écotype pélagique durant la saison de croissance, à l'aide du dosage d'hormones stéroïdiennes (T, 11-KT, E₂) et de la VTG. Un objectif secondaire était de confirmer que la classification des individus par écotype était adéquate selon la capture par habitat (littoral ou pélagique) à l'aide d'analyses morphologiques. Nous prédisons que les individus littoraux auront des patrons saisonniers de concentrations plasmatiques des hormones stéroïdiennes et de la VTG devancés par rapport à ceux des individus pélagiques. De plus, nous croyons que la morphologie des individus capturés dans l'habitat littoral et pélagique correspondra aux descriptions des écotypes retrouvés généralement dans ces habitats.

1.2 Matériel et méthodes

1.2.1 Capture des poissons

Les ombles de fontaine ont été capturés au lac Ledoux situé dans la réserve Mastigouche (46°38' N, 73°15' O) et au lac Waber situé dans le Parc national de la

Mauricie (46°45' N, 73°09' O). Au lac Ledoux, cette espèce est la seule présente, alors qu'au lac Waber une espèce de cyprinidés, le ventre rouge du nord (*Chrosomus eos*), est aussi présente. La pêche sportive est généralement autorisée pendant la saison estivale dans ces deux lacs de type oligotrophe. Cependant, le lac Ledoux a été fermé à cette pratique pour la durée de l'étude en 2010. Au lac Waber, la pêche était autorisée, mais les quotas ont été restreints pendant les deux saisons estivales où l'étude a eu lieu, soit en 2009 et 2010. Ces deux lacs font partie du même bassin versant. Ils possèdent chacun des zones littorales et pélagiques importantes. De plus, la présence de polymorphisme associé aux ressources a été confirmée chez la population d'omble de fontaine du lac Ledoux (Magnan *et al.*, en préparation). Plusieurs indices montrent que le lac Waber posséderait également une population présentant ce même phénomène (communication personnelle avec Michel Plante, PNLM).

Des filets monofilaments fins suspendus dans la colonne d'eau ont été utilisés pour la capture des poissons. Ceux-ci étaient vérifiés après 15 à 20 minutes d'immersion (5 à 10 minutes sur la frayère) afin d'éviter les mortalités. D'autres engins de pêche ont aussi été utilisés comme le filet expérimental multifilament, le verveux, la ligne à pêche et la trappe Alaska à quelques reprises, afin d'augmenter le succès de pêche (Annexe B). Du mois d'août au mois de novembre, 60 individus (≥ 20 cm de longueur et matures) ont été capturés mensuellement, soit 15 mâles et 15 femelles de chaque écotype pour l'année 2010. En 2009, l'échantillonnage a débuté au mois de juin, à raison de 40 individus par mois, soit 10 mâles et 10 femelles de chaque écotype. Les individus de l'écotype littoral ont été capturés dans une profondeur de 0,5 à 3 m (zone littorale) alors que les individus de l'écotype pélagique ont été capturés à une profondeur de minimum 5 m (zone pélagique). Une carte des zones de captures exploitées dans chacun des lacs se retrouve à l'annexe C. Au mois d'octobre et de novembre, les ombles étaient capturés sur la frayère. Tous les individus pêchés étaient placés dans des cages de rétention à une profondeur où la température était adéquate (≤ 18 °C) jusqu'au matin suivant. Des détails supplémentaires quant à la capture des poissons se retrouvent au chapitre II.

1.2.2 Prélèvement des échantillons biologiques

Chaque individu capturé la veille était anesthésié dans une solution de MS222 avant d'être pesé et mesuré (longueur à la fourche et largeur du corps). Un prélèvement sanguin était effectué au niveau de la nageoire caudale avec une seringue. Le sang recueilli était ensuite centrifugé et le plasma était pipeté en deux réplicats. Les échantillons de plasma étaient par la suite congelés sur de la glace sèche pendant la durée du terrain. Les prélèvements sanguins étaient effectués toujours au même moment de la journée pour éviter les variations induites par le cycle circadien. Chaque individu était ensuite sacrifié, photographié (voir section suivante), et une dissection était réalisée afin de prélever et peser les gonades, le foie, et un segment de muscle du dos (échantillons supplémentaires) qui étaient également congelés sur de la glace sèche. L'estomac et le premier arc branchial gauche étaient conservés dans de la formaldéhyde 10 % (échantillons supplémentaires). Un échantillon d'écailles et les otolithes ont aussi été conservés (échantillons supplémentaires). Tous les individus ont été manipulés rapidement en tout temps afin de limiter le stress (taux de cortisol). Les échantillons congelés sur la glace sèche étaient transférés au congélateur -80 °C au retour du terrain. Des détails supplémentaires quant au prélèvement des échantillons biologiques se retrouvent au chapitre II.

1.2.3 Dosage d'hormones et de la VTG

Les hormones stéroïdiennes et la VTG étaient dosées à partir des échantillons de plasma sanguin préalablement congelés des individus matures seulement, la maturation étant confirmée par l'examen des gonades. Des trousse mesurant directement les stéroïdes ont été utilisée (compétitions entre anticorps marqués et non-marqués). La VTG chez les femelles et la 11-KT chez les mâles étaient dosées avec des trousse ELISA. La E₂ chez les femelles et la T chez les deux sexes étaient dosées avec des trousse RIA. Le cortisol a été mesuré pour quelques individus du lac Waber capturés en 2009 à l'aide de trousse ELISA afin de déterminer s'il y avait une différence du niveau de stress entre les poissons capturés avec des engins de pêche différents (filet multifilament, filet monofilament, verveux et ligne à pêche). Tous les dosages étaient

effectués selon les protocoles émis pour chacune des trousse. Des dilutions sériees étaient testées pour chaque hormone et la VTG afin de confirmer leur linéarité. La précision intra et inter-essais était vérifiée par le calcul des coefficients de variation. Des détails supplémentaires quant aux dosages d'hormones et de la VTG se retrouvent au chapitre II.

1.2.4 Analyses morphométriques

Chaque poisson sacrifié était déposé dans un moule de mousse styromousse (préalablement sculpté pour épouser la forme des poissons) de façon à photographier son côté gauche (Annexe D). L'appareil photo était installé sur un support directement au-dessus du poisson et à une distance suffisante pour éviter l'effet de distorsion. Les photographies étaient produites en deux répliqués avec la fonction automatique d'un appareil photo numérique Canon PowerShot SX210 IS. Les photos étaient ensuite enregistrées sur un ordinateur portable.

Les différences morphologiques permettant de distinguer les individus de l'écotype littoral de ceux de l'écotype pélagique étaient analysées selon la méthode des plaques minces (*thin-plate spline*) décrite dans Olsson et Eklöv (2005). Les photos étaient téléchargées dans le logiciel TPSDig32 afin de digitaliser des coordonnées sur les individus correspondant à la forme du corps (morphométrie géométrique). Des coordonnées supplémentaires étaient aussi digitalisées afin de pouvoir mesurer la longueur de certains traits (morphométrie traditionnelle) (Rohlf, 2003a). Les combinaisons de coordonnées décrivant la forme du corps de chaque individu étaient ensuite standardisées à l'aide du logiciel TPSRelw afin d'enlever toute variation liée à la longueur ou à la position du poisson (*procrustes superimposition*) (Rohlf, 2003b). Les composantes décrivant la variation de la forme du corps étaient ensuite décomposées en pointage uniforme et non-uniforme (*warps*) qui était par la suite utilisé comme paramètre dans les analyses statistiques. Enfin, le logiciel TPSRegr permettait de visualiser la forme du corps standardisée de chaque individu obtenu par le logiciel

précédent (Rohlf, 2004). Des détails supplémentaires quant aux analyses morphométriques se retrouvent au chapitre II.

1.2.5 Analyses statistiques

Pour la T, la 11-KT, la E₂ et la VTG, le test non-paramétrique de Wilcoxon Mann-Whitney a été utilisé puisque les données ne respectaient pas les conditions de normalité et d'homogénéité des variances en raison d'un faible effectif. Le test a été appliqué sur les périodes d'échantillonnage précédant la période de reproduction afin de vérifier si les concentrations d'hormones et de VTG étaient différentes entre les écotypes littoral et pélagique durant la saison de croissance. Les bases de données du lac Waber 2009 et 2010 ont été combinées pour augmenter les effectifs puisqu'aucun effet de l'année n'avait été détecté. Pour le cortisol, un test de Student a été appliqué sur les concentrations dosées chez les poissons capturés avec différents engins de pêche en fonction du mois d'échantillonnage.

Des analyses discriminantes ont été utilisées pour déterminer si la forme du corps et la longueur des traits différaient entre les individus de l'écotype littoral et pélagique pour les périodes précédant le frai. Les bases de données du lac Waber 2009, lac Waber 2010 et lac Ledoux 2010 ont été testées individuellement afin d'éviter d'obtenir une variabilité inexpliquée plus élevée en raison d'un effet de l'année et du lac. Le test de reclassification de Jackknife a ensuite été appliqué pour les deux méthodes afin de vérifier si les différences entre les écotypes étaient assez importantes pour reclassifier chaque individu dans le bon groupe. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel R (R Development Core Team, 2010). Des détails supplémentaires sur les analyses statistiques se retrouvent au chapitre II.

1.2.6 Analyses complémentaires à celles présentées au chapitre II

À titre indicatif, des analyses discriminantes ont aussi été appliquées sur les données prises pendant le frai pour la morphométrie géométrique et traditionnelle.

1.3 Résultats

1.3.1 Dosage d'hormones et de la VTG

Les concentrations plasmatiques des hormones stéroïdiennes (T, 11-KT, E₂) et de la VTG pour les deux lacs suivent le même patron saisonnier, soit une faible augmentation, suivie d'une hausse rapide juste avant la période de reproduction et une diminution par suite au niveau initial (chapitre II, Fig. 2 à 11).

Chez les mâles du lac Waber, les concentrations plasmatiques de la 11-KT étaient significativement plus élevées chez l'écotype littoral pour deux périodes d'échantillonnage (fin août $p = 0,031$; début septembre $p = 0,006$) juste avant la période de reproduction (chapitre II, Fig. 3). Les concentrations plasmatiques de T étaient également plus élevées chez l'écotype littoral, mais seulement pour une période d'échantillonnage (fin août $p = 0,026$) (chapitre II, Fig. 2). Chez les femelles du même lac, seulement les concentrations de VTG étaient significativement plus élevées plus tôt chez l'écotype pélagique pour une seule période d'échantillonnage (juillet $p = 0,024$) (chapitre II, Fig. 6). Aucune différence significative des concentrations d'hormones stéroïdiennes et de VTG n'a été trouvée entre les écotypes pour les mâles et les femelles du lac Ledoux (chapitre II, Fig. 7 à 11). Par ailleurs, la grande variabilité des résultats est probablement attribuable au fait que les spécimens n'ont pas été classés en fonction de leur indice gonado-somatique (IGS) pour des analyses.

En ce qui concerne le cortisol, à l'exception du mois de juin, aucune différence significative des concentrations plasmatiques n'a été observée entre les poissons capturés avec des engins de pêche différents au lac Waber en 2009 (Figure 1.2). Notons que la température du bassin de rétention des individus capturés au filet multifilament, au mois de juin, était particulièrement élevée, ce qui a probablement influencé à la hausse les concentrations de cortisol. Des détails supplémentaires sur les résultats des dosages d'hormones et de la VTG se retrouvent au chapitre II.

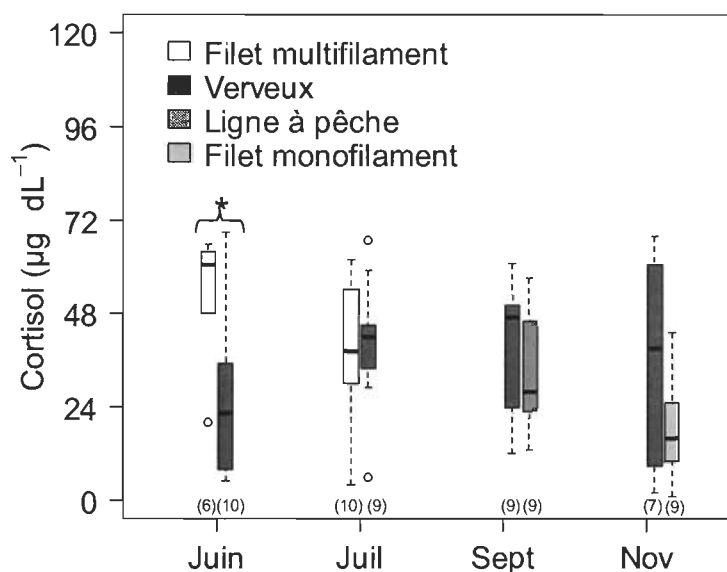


Figure 1.2 : Concentrations plasmiques de cortisol mesurées chez les ombles de fontaine capturés avec différents engins de pêche au lac Waber en 2009. L'astérisque (*) correspond à une différence significative pour $p < 0,05$.

1.3.2 Analyses morphométriques

Les analyses discriminantes sur la forme du corps (morphométrie géométrique) pour les lacs Waber en 2009, Waber en 2010 et Ledoux en 2010 étaient toutes significatives ($p < 0,05$). Le dimorphisme sexuel explique en premier lieu la variation de la forme du corps. Les grilles de déformations indiquent un museau plus long et une hauteur du corps plus élevée chez les mâles de l'écotype pélagique comparativement aux femelles du même écotipe pour le lac Waber en 2009 (chapitre II, Fig. 12) et Ledoux en 2010 (chapitre II, Fig. 14). La forme du corps des mâles et des femelles de l'écotype littoral sont davantage similaires pour ces mêmes bases de données. En ce qui concerne le lac Waber en 2010 (chapitre II, Fig. 13), ce sont les mâles de l'écotype littoral qui possède un plus long museau et une hauteur du corps plus élevée par rapport aux femelles du même écotipe, alors que les individus de l'écotype pélagique se ressemblent davantage.

Les analyses discriminantes des mesures du corps (morphométrie traditionnelle) montraient également des différences significatives ($p < 0,05$) entre les écotypes littoral et pélagique pour toutes les bases de données (lac Waber 2009, lac Waber 2010 et lac Ledoux 2010) (chapitre II, Fig. 15).

Le test de reclassification Jackknife a permis de reclassifier significativement ($p < 0,05$) chaque individu dans le bon groupe autant pour la morphométrie géométrique que traditionnelle pour chacune des bases de données (lac Waber 2009, lac Waber 2010 et lac Ledoux 2010) avant la reproduction (chapitre II, Table 1.).

1.3.3 Analyses complémentaires à celles présentées au chapitre II

Les analyses discriminantes pour la morphométrie géométrique pendant la reproduction étaient significatives ($p < 0,05$) pour toutes les bases de données (lac Waber 2009, lac Waber 2010 et lac Ledoux 2010). Le dimorphisme sexuel et les différences entre les écotypes littoral et pélagique étaient plus accentués durant la période de reproduction qu'avant (Figures 1.3 à 1.8).

Les analyses discriminantes pour la morphométrie traditionnelle suggèrent également l'amplification des différences associées aux écotypes pendant la période de reproduction (Figure 1.9). Les traits qui distinguent le mieux les écotypes littoral et pélagique sont variables entre les lacs, les années et les périodes avant et pendant la reproduction (Tableaux 1.1, 1.2, et 1.3).

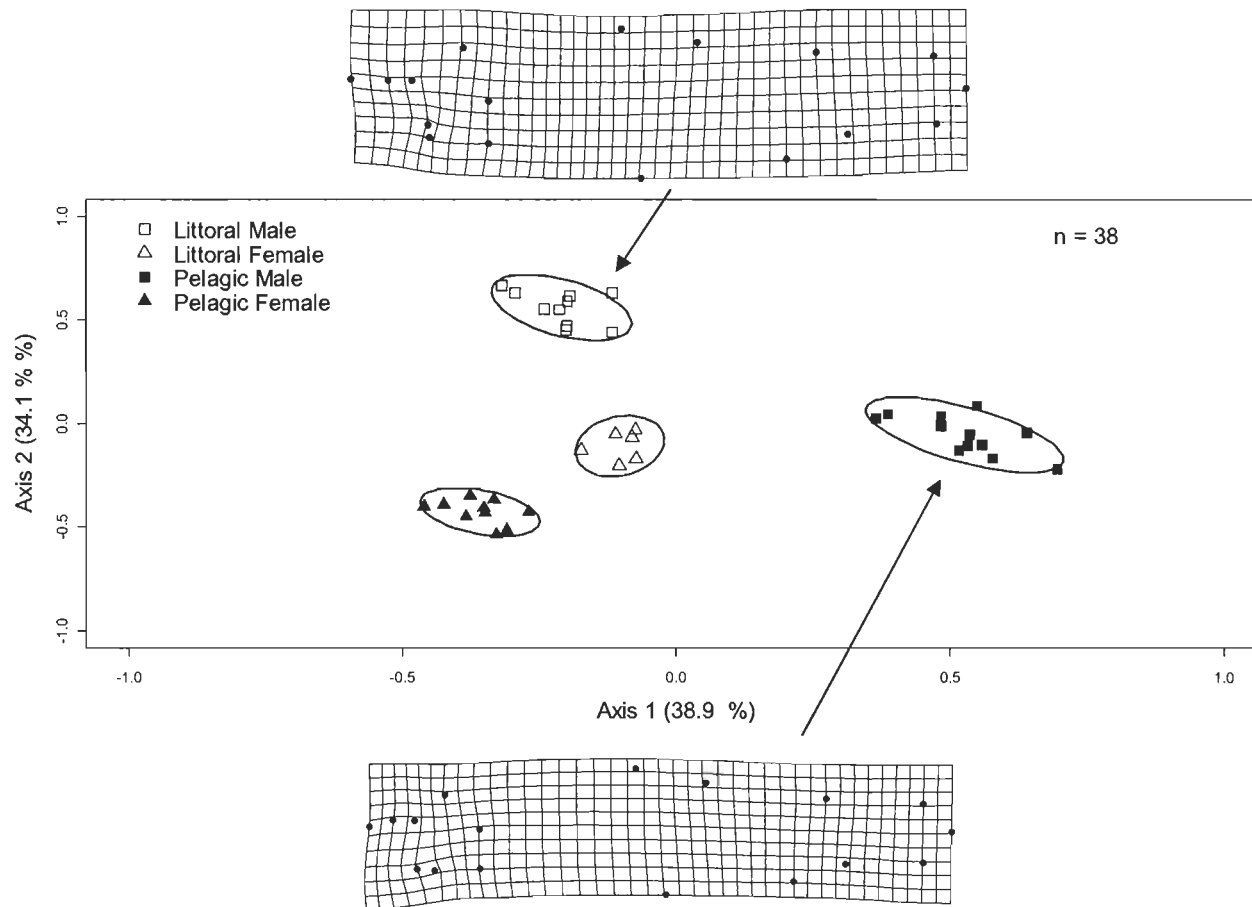


Figure 1.3 Scores canoniques des axes 1 et 2 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Waber pendant la période de reproduction en 2009. Les grilles de déformation montrent la forme du corps des mâles amplifiée trois fois.

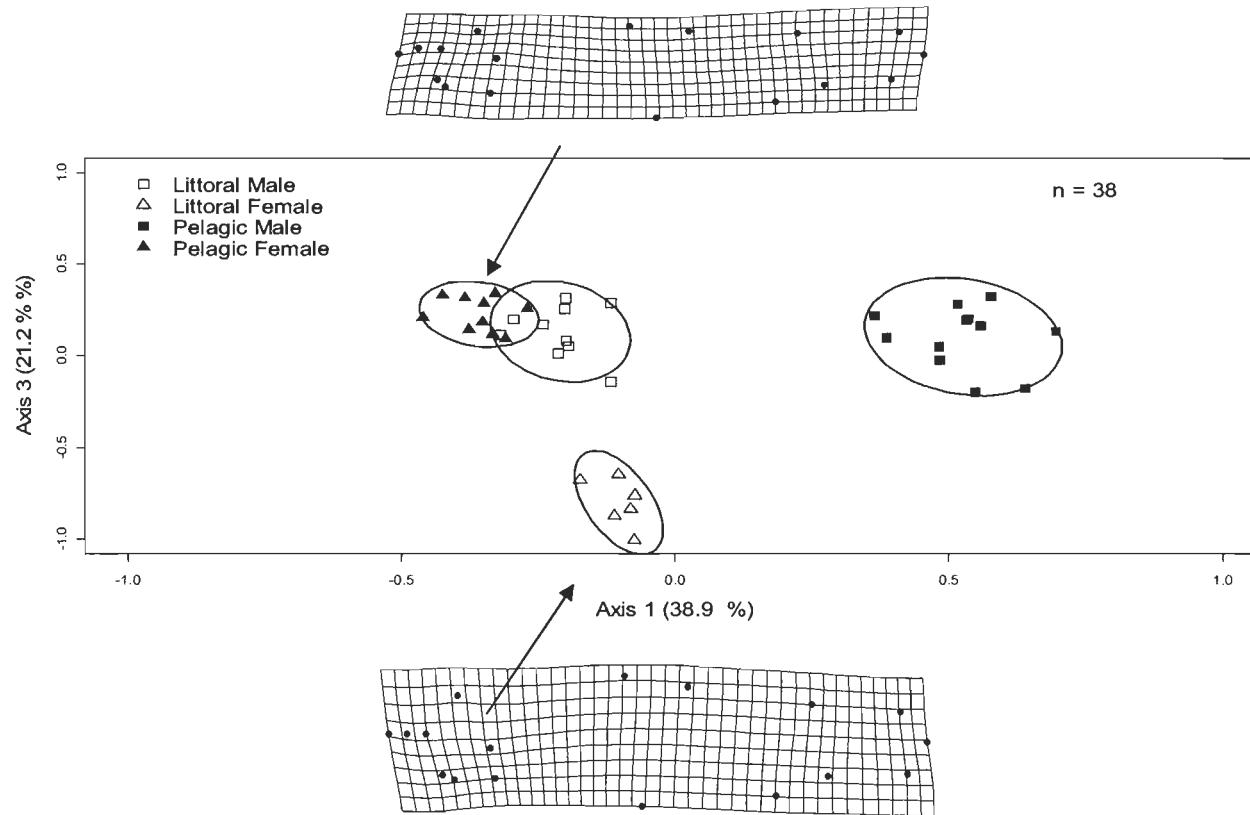


Figure 1.4 Scores canoniques des axes 1 et 3 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Waber pendant la période de reproduction en 2009. Les grilles de déformation montrent la forme du corps des femelles amplifiée trois fois.

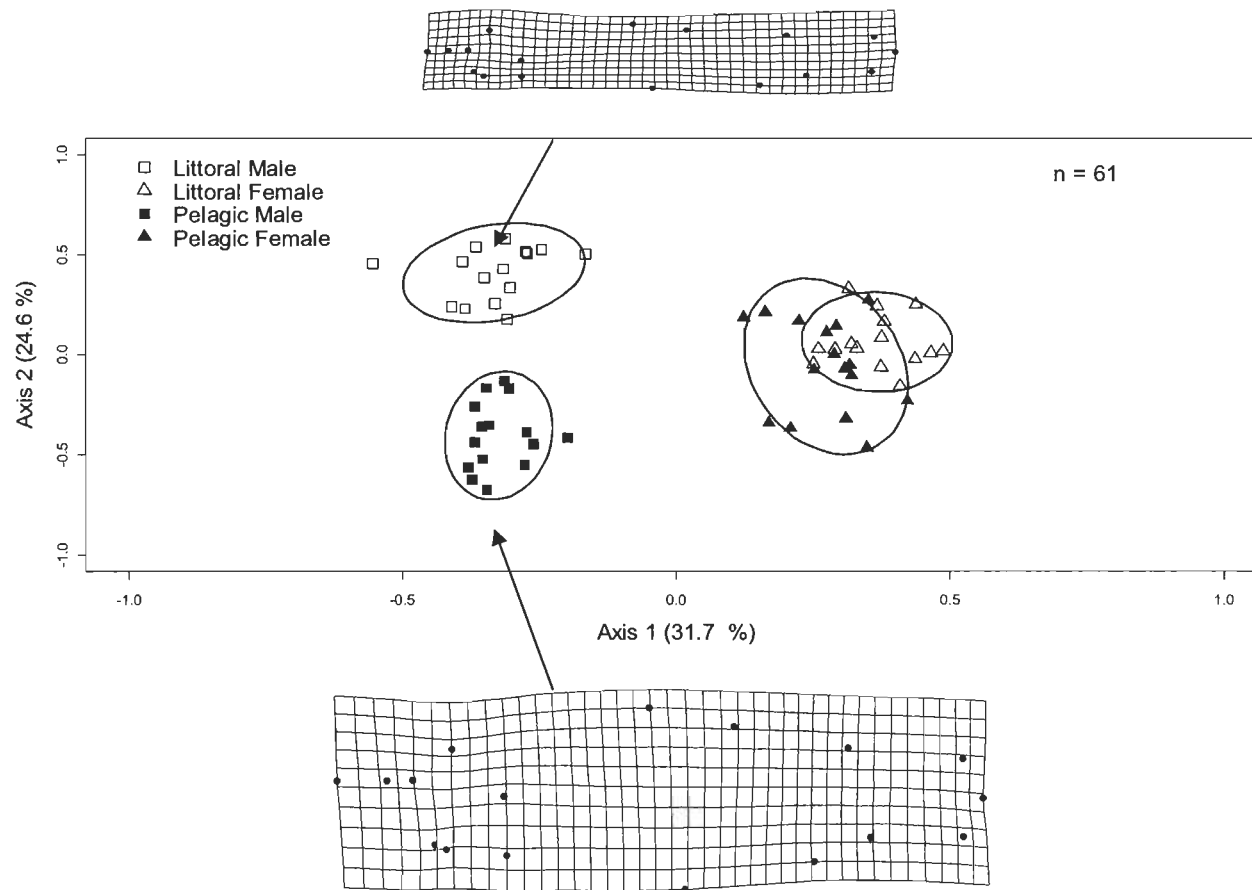


Figure 1.5 Scores canoniques des axes 1 et 2 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Waber pendant la période de reproduction en 2010. Les grilles de déformation montrent la forme du corps des mâles amplifiée trois fois.

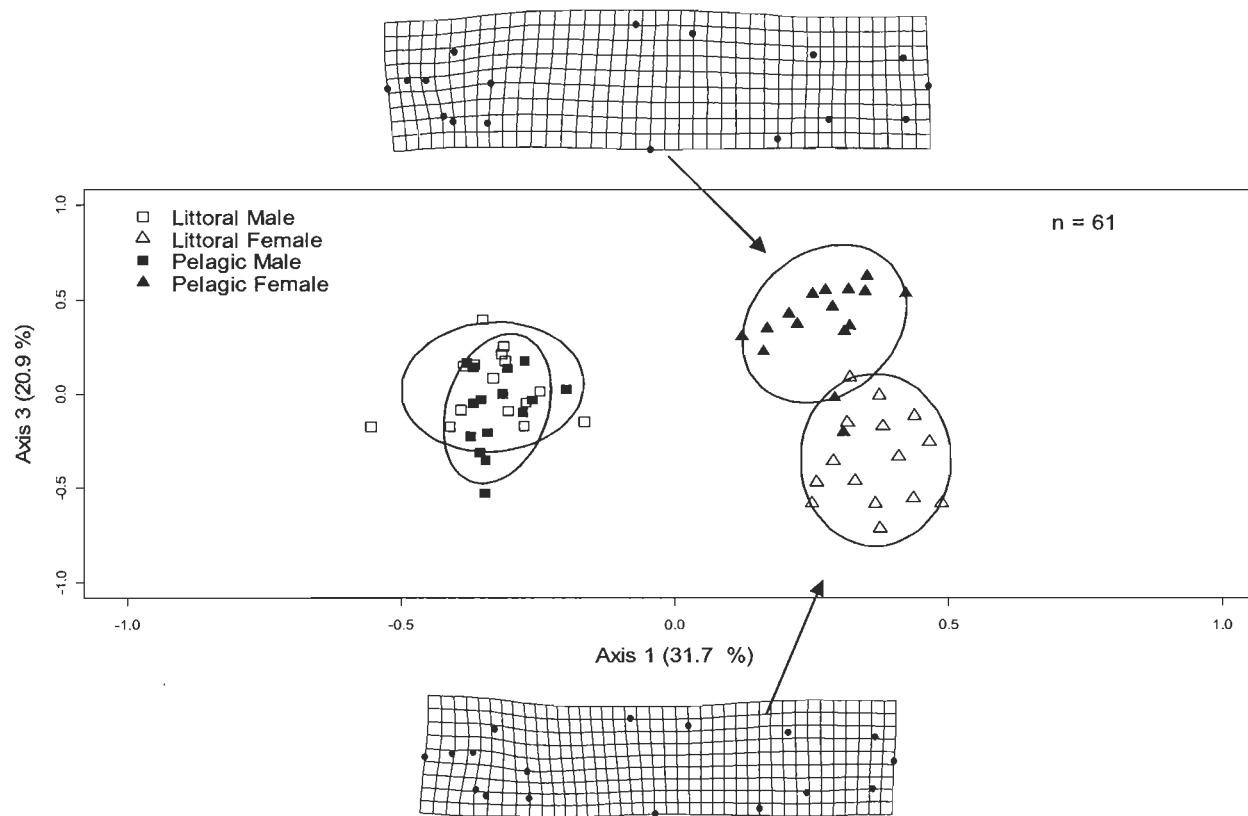


Figure 1.6 Scores canoniques des axes 1 et 3 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Waber pendant la période de reproduction en 2010. Les grilles de déformation montrent la forme du corps des femelles amplifiée trois fois.

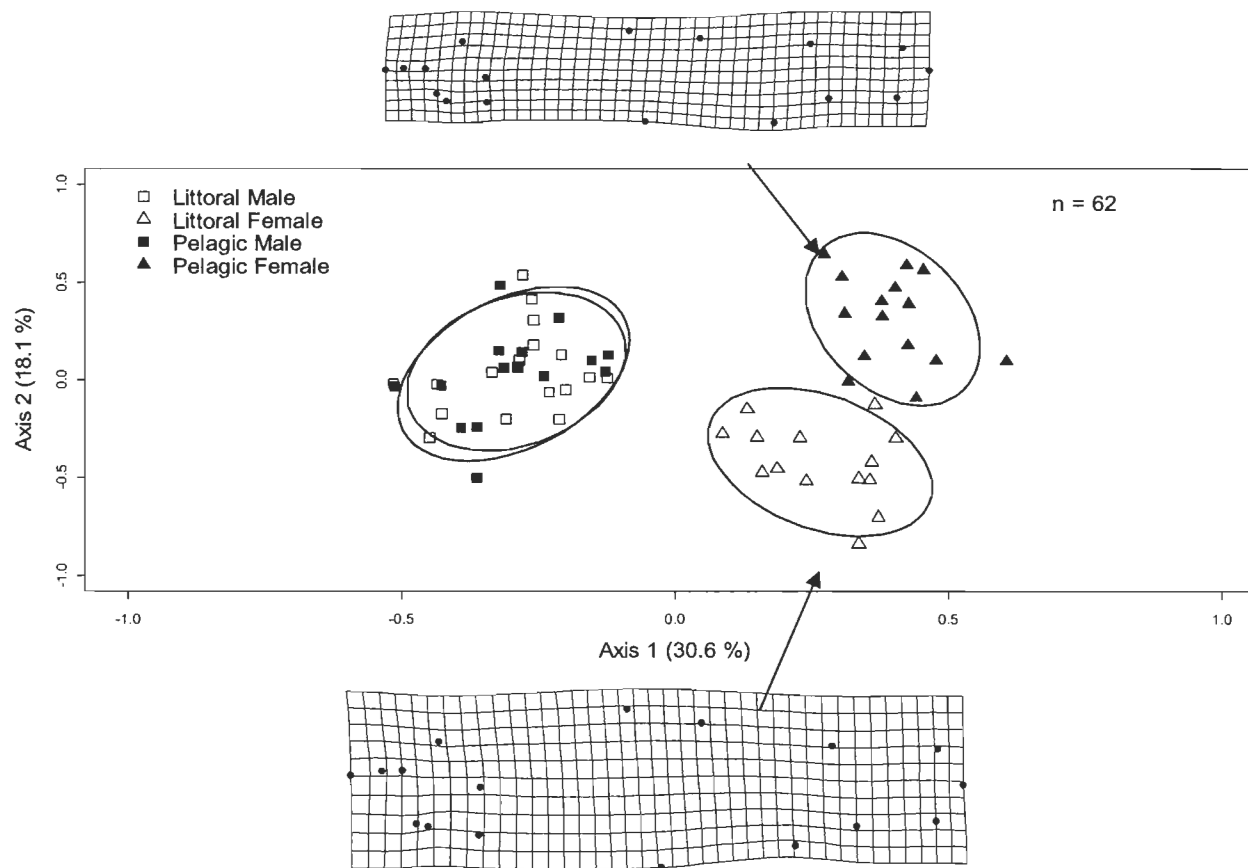


Figure 1.7 Scores canoniques des axes 1 et 2 d’une analyse de correspondance sur la forme du corps d’omble de fontaine mâles et femelles de l’écotype littoral (échantillonnage au mois d’octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Ledoux pendant la période de reproduction en 2010. Les grilles de déformation montrent la forme du corps des femelles amplifiée trois fois.

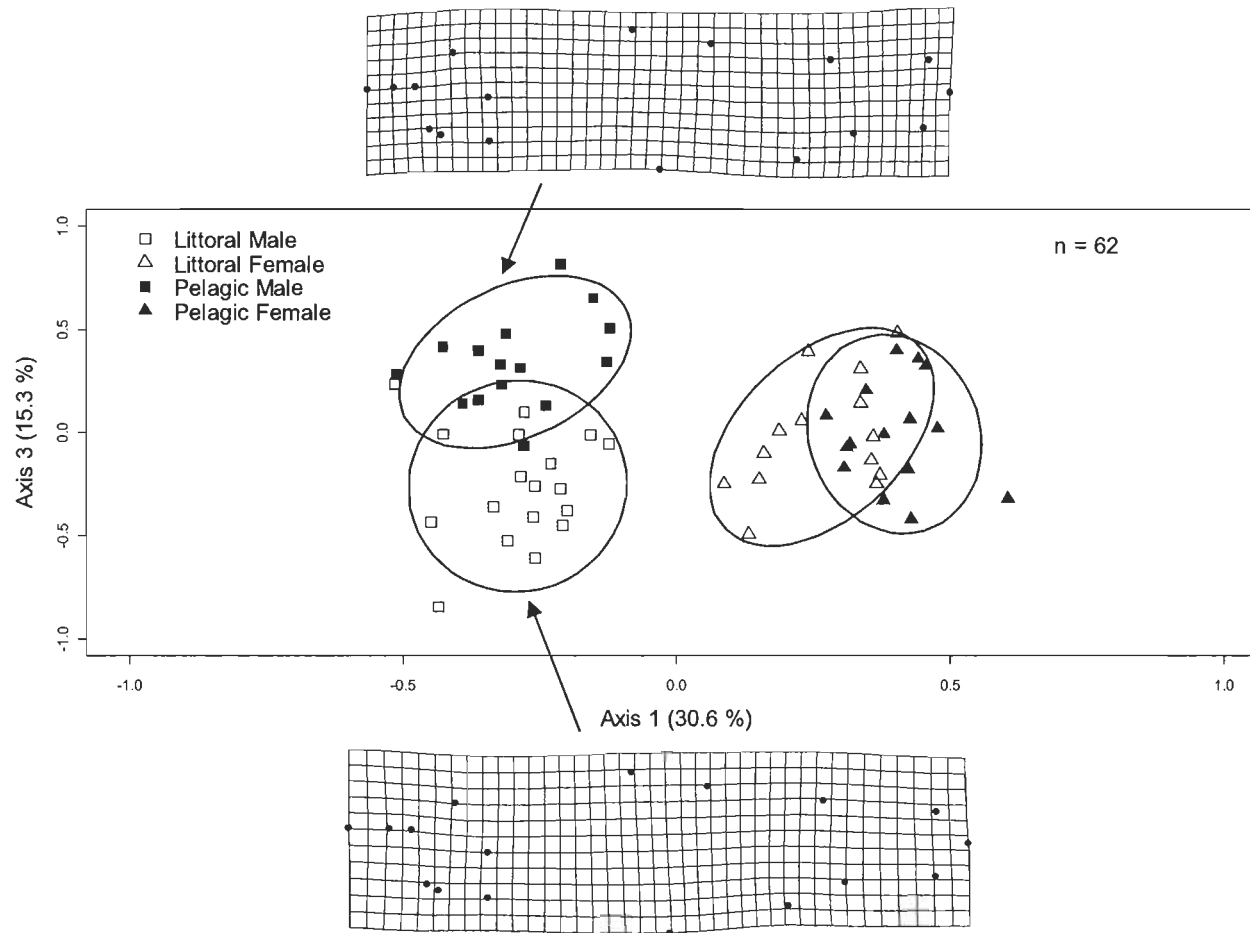


Figure 1.8 Scores canoniques des axes 1 et 3 d'une analyse de correspondance sur la forme du corps d'omble de fontaine mâles et femelles de l'écotype littoral (échantillonnage au mois d'octobre) et pélagique (échantillonnage au mois de novembre) sur la frayère du lac Ledoux pendant la période de reproduction en 2010. Les grilles de déformation montrent la forme du corps des mâles amplifié trois fois.

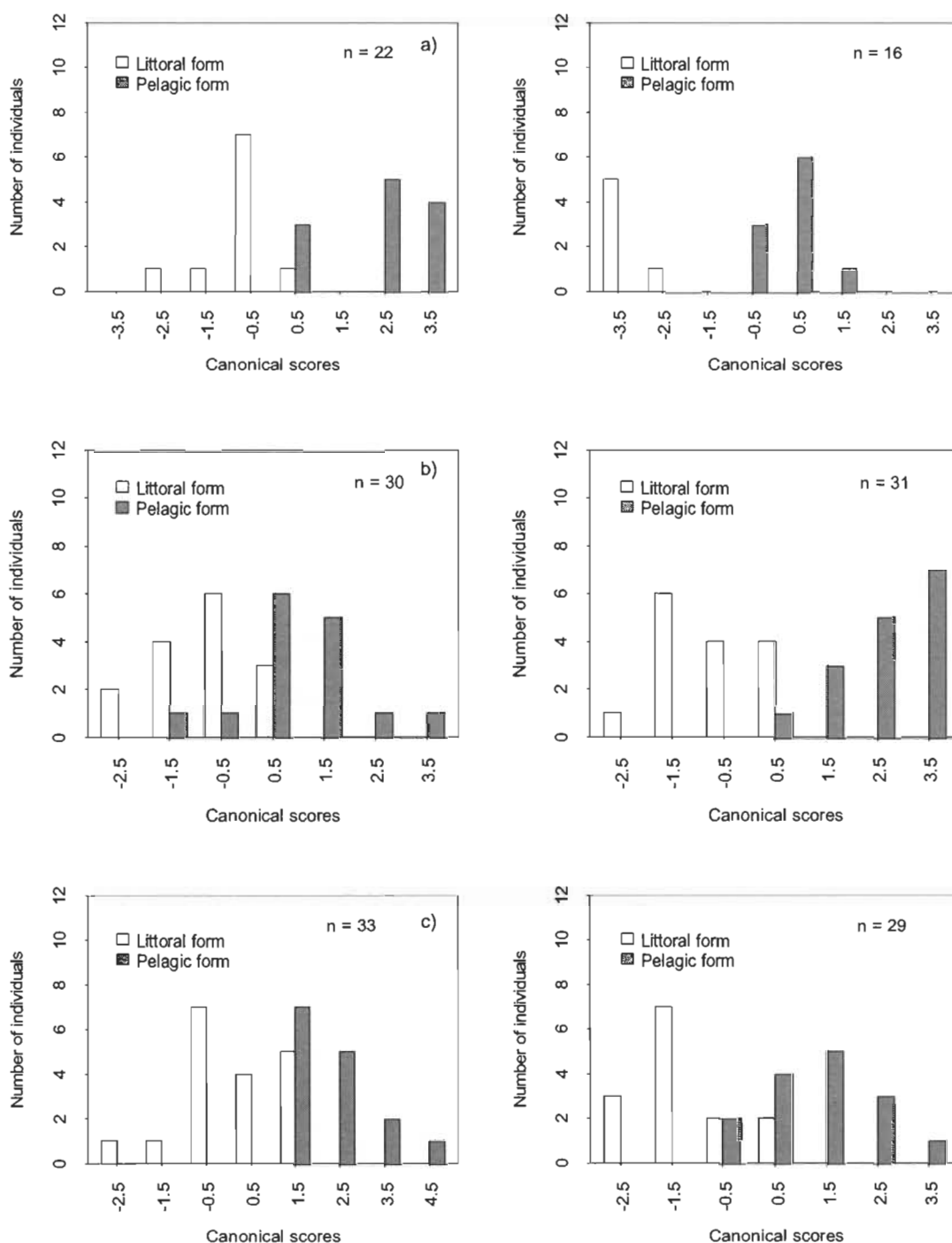


Figure 1.9 Scores canoniques d'une analyse discriminante basée sur la longueur des 11 traits mesurés pour les deux écotypes chez les mâles (gauche) et les femelles (droite) capturés sur la frayère pendant la période de reproduction (frayère) pour a) le lac Waber en 2009, b) le lac Waber en 2010 et c) le lac Ledoux en 2010.

Tableau 1.1 Coefficients canoniques et moyennes ajustées pour les 11 traits mesurés pour les deux écotypes chez les mâles et les femelles capturés avant et pendant la période de reproduction (frayère) pour le lac Waber en 2009. Les valeurs encadrées représentent les 3 traits ayant les coefficients canoniques les plus élevés.

Mesures morphométriques	Avant la reproduction ¹						Pendant la reproduction ²					
	Mâles			Femelles			Mâles			Femelles		
	Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)		Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)		Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)		Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)	
		Littoraux (n=23)	Pélagiques (n=36)		Littoraux (n=22)	Pélagiques (n=26)		Littoraux (n=10)	Pélagiques (n=12)		Littoraux (n=6)	Pélagiques (n=10)
Longueur		232.3 \pm 24.9	245.1 \pm 29.9		240.7 \pm 29.9	258.7 \pm 21.5		266.6 \pm 37.0	244.3 \pm 38.7		244.3 \pm 20.3	253.3 \pm 40.3
Largeur	0.203	270.7 \pm 14.2	274.8 \pm 15.3	2.071	268.1 \pm 19.7	278.6 \pm 17.9	-4.218	262.3 \pm 13.1	242.8 \pm 10.7	-2.666	269.4 \pm 17.6	242 \pm 22.9
Dorsale	0.009	26.9 \pm 1.0	27.1 \pm 1.5	-0.737	27.5 \pm 1.6	28.2 \pm 1.8	0.594	30.9 \pm 2.4	31.2 \pm 2.1	-0.603	28.8 \pm 1.9	28.9 \pm 1.3
Pédoncule caudal	0.527	20.7 \pm 0.9	20.6 \pm 0.7	2.092	21.2 \pm 1.1	21.5 \pm 0.7	2.395	22.9 \pm 0.8	23.8 \pm 1.0	2.455	22.2 \pm 0.5	22.5 \pm 1.0
Pectorale	0.841	34.6 \pm 1.5	35.3 \pm 1.6	1.466	34.8 \pm 1.8	36.6 \pm 1.4	-1.406	38.7 \pm 2.1	38.0 \pm 2.0	3.596	34.6 \pm 1.9	36.2 \pm 1.0
Mandibule supérieure	-1.004	29.0 \pm 1.9	27.5 \pm 2.1	-0.411	26.3 \pm 1.4	25.4 \pm 1.7	-3.324	31.2 \pm 3.0	33.4 \pm 1.9	-0.961	24.3 \pm 1.8	27.6 \pm 2.2
Mâchoire inférieure	0.813	33.7 \pm 1.8	32.3 \pm 1.9	1.403	30.7 \pm 1.6	30.1 \pm 1.7	4.762	36.6 \pm 2.5	38.2 \pm 2.0	5.387	29.5 \pm 1.8	33.0 \pm 2.0
Museau	1.302	10.4 \pm 1.0	10.3 \pm 1.2	-0.029	9.9 \pm 0.8	8.8 \pm 0.6	-0.653	12.3 \pm 1.1	13.0 \pm 1.2	-0.129	8.8 \pm 1.4	9.0 \pm 1.2
Tête	-2.312	47.6 \pm 2.1	46.0 \pm 1.9	-0.787	46.8 \pm 2.0	44.2 \pm 2.1	0.941	51.0 \pm 2.2	52.7 \pm 2.8	-3.969	45.0 \pm 1.9	47.0 \pm 2.4
Hauteur du corps 1	-1.603	52.4 \pm 3.2	51.3 \pm 2.4	-1.184	53.2 \pm 3.7	53.4 \pm 1.6	0.241	58.8 \pm 3.6	60.9 \pm 3.0	-8.137	52.6 \pm 3.3	54.3 \pm 5.2
Hauteur du corps 2	3.468	53.1 \pm 2.0	54.2 \pm 1.8	-1.164	58.3 \pm 2.3	58.0 \pm 1.5	2.026	58.1 \pm 2.4	59.3 \pm 2.7	20.179	57.1 \pm 1.4	59.5 \pm 2.5
Dorsale-caudale	-0.601	93.1 \pm 3.8	94.8 \pm 2.9	0.393	97.7 \pm 3.6	98.5 \pm 2.3	-0.374	93.7 \pm 2.0	94.6 \pm 2.6	-5.060	96.8 \pm 3.8	99.1 \pm 2.7
Pelvienn-caudale	0.560	48.0 \pm 2.3	46.7 \pm 1.5	-0.516	48.8 \pm 2.0	47.7 \pm 1.7	1.825	49.0 \pm 1.5	50.3 \pm 1.8	-1.700	48.1 \pm 2.0	48.7 \pm 2.3

¹ Échantillonnage des mois de juin à septembre.

² Échantillonnage des mois d'octobre et de novembre.

Tableau 1.2 Coefficients canoniques et moyennes ajustées pour les 11 traits mesurés pour les deux écotypes chez les mâles et les femelles capturés avant et pendant la période de reproduction (frayère) pour le lac Waber en 2010. Les valeurs encadrées représentent les 3 traits ayant les coefficients canoniques les plus élevés.

Mesures morphométriques	Avant la reproduction ¹						Pendant la reproduction ²					
	Mâles			Femelles			Mâles			Femelles		
	Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)		Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)		Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)		Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)	
		Littoraux (n=26)	Pélagiques (n=18)		Littoraux (n=17)	Pélagiques (n=19)		Littoraux (n=15)	Pélagiques (n=15)		Littoraux (n=15)	Pélagiques (n=16)
Longueur		222.7 \pm 30.0	255.7 \pm 26.2		207.4 \pm 16.0	240.8 \pm 23.5		266.5 \pm 28.2	255.2 \pm 31.2		275.0 \pm 25.3	252.4 \pm 17.2
Largeur	0.823	248.7 \pm 26	282 \pm 13.5	1.570	235.5 \pm 9.9	237.6 \pm 13.6	-1.593	249.5 \pm 11.2	241.6 \pm 21.0	0.251	284.5 \pm 24.9	274.1 \pm 27.8
Dorsale	-0.336	23.7 \pm 2.6	24.5 \pm 0.9	-0.984	24.0 \pm 1.2	24.8 \pm 1.8	-0.755	28.9 \pm 1.1	29.0 \pm 1.4	0.818	27.1 \pm 0.9	27.6 \pm 1.0
Péduncle caudal	-0.242	18.6 \pm 0.7	18.5 \pm 0.7	-3.073	17.8 \pm 0.5	18.2 \pm 1.4	-0.148	20.9 \pm 0.8	21.1 \pm 0.8	4.219	20.5 \pm 0.8	21.1 \pm 0.7
Pectorale	-0.985	32.2 \pm 1.4	32.3 \pm 1.1	1.749	28.6 \pm 1.0	31.9 \pm 2.6	-2.607	36.8 \pm 1.3	36.2 \pm 1.7	-1.669	35.2 \pm 1.6	35.1 \pm 0.7
Mandibule supérieure	-0.973	26.6 \pm 1.8	26.3 \pm 2.1	-1.300	22.0 \pm 1.0	26.3 \pm 2.2	1.423	33.7 \pm 2.7	34.9 \pm 1.2	-11.283	28.8 \pm 1.6	28.3 \pm 1.2
Mâchoire inférieure	0.575	31.2 \pm 1.9	32.1 \pm 1.7	-2.670	27.2 \pm 1.1	31.3 \pm 2.3	-1.866	39.3 \pm 2.1	39.5 \pm 1.5	10.090	33.9 \pm 1.8	33.8 \pm 1.1
Museau	-0.954	10.1 \pm 0.9	10.6 \pm 0.8	-0.191	8.3 \pm 0.4	9.4 \pm 1.2	-1.610	14.1 \pm 1.1	14.2 \pm 0.9	1.548	11.2 \pm 0.8	11.8 \pm 0.8
Tête	4.209	43.2 \pm 2.0	45.3 \pm 1.7	3.920	39.4 \pm 1.2	45.3 \pm 3.6	3.453	53.3 \pm 2.7	53.7 \pm 1.3	1.240	48.9 \pm 2.2	49.2 \pm 1.1
Hauteur du corps 1	1.590	45.5 \pm 2.0	45.1 \pm 2.5	0.182	43.2 \pm 1.4	45.2 \pm 3.4	1.383	54.4 \pm 3.2	55.9 \pm 2.6	-0.945	51.0 \pm 2.9	49.3 \pm 2.5
Hauteur du corps 2	-0.474	50.1 \pm 2.9	49.3 \pm 2.2	0.158	47.2 \pm 1.3	50.9 \pm 3.8	2.039	53.9 \pm 2.2	54.1 \pm 1.9	2.726	56.2 \pm 1.7	56.2 \pm 1.8
Dorsale-caudale	-1.054	87.1 \pm 3.6	83.9 \pm 2.0	1.878	82.5 \pm 1.4	87.3 \pm 6.0	-0.976	89.5 \pm 4.1	88.4 \pm 2.3	1.106	94.6 \pm 3.7	94.7 \pm 2.8
Pelvienn-caudale	-0.205	42.2 \pm 1.2	42.0 \pm 1.9	-1.004	40.7 \pm 1.0	41.4 \pm 2.7	1.012	44.7 \pm 2.7	45.7 \pm 2.0	-3.437	46.7 \pm 2.9	46.0 \pm 1.5

¹ Échantillonnage des mois d'août et de septembre.

² Échantillonnage des mois d'octobre et de novembre.

Tableau 1.3 Coefficients canoniques et moyennes ajustées pour les 11 traits mesurés pour les deux écotypes chez les mâles et les femelles capturés avant et pendant la période de reproduction (frayère) pour le lac Ledoux en 2010.
Les valeurs encadrées représentent les 3 traits ayant les coefficients canoniques les plus élevés.

Mesures morphométriques	Avant la reproduction ¹						Pendant la reproduction ²					
	Mâles			Femelles			Mâles			Femelles		
	Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)		Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)		Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)		Coefficients canoniques	Moyenne \pm S.D. longueur (mm)	
		Littoraux (n=32)	Pélagiques (n=35)		Littoraux (n=28)	Pélagiques (n=25)		Littoraux (n=18)	Pélagiques (n=14)		Littoraux (n=15)	Pélagiques (n=15)
Longueur		260.3 \pm 35.9	268.0 \pm 40.1		268.1 \pm 49.2	271.8 \pm 44.5		290.5 \pm 42.9	297.3 \pm 43.4		291.4 \pm 45.4	305.5 \pm 43.7
Largeur	-1.539	290.4 \pm 18.8	278.4 \pm 17.9	-1.777	298.8 \pm 19.0	289.5 \pm 16.2	-3.698	299.8 \pm 14.2	287.1 \pm 11.4	-0.887	346.5 \pm 25.2	310.8 \pm 31.6
Dorsale	0.258	29.4 \pm 1.7	29.2 \pm 2.1	1.047	28.9 \pm 1.5	28.8 \pm 1.9	-0.294	35.4 \pm 2.4	35.4 \pm 2.1	0.070	34.6 \pm 1.8	35.5 \pm 1.9
Pédoncule caudal	1.411	21.4 \pm 0.6	21.4 \pm 1.0	-2.413	21.3 \pm 0.8	21.2 \pm 0.7	1.808	25.3 \pm 1.1	25.2 \pm 1.1	1.406	25.5 \pm 0.6	25.5 \pm 1.2
Pectorale	1.101	36.0 \pm 1.5	35.8 \pm 1.9	-0.123	36.4 \pm 1.5	35.3 \pm 1.8	0.458	43.0 \pm 3.0	42.7 \pm 2.0	-2.570	43.6 \pm 1.7	41.2 \pm 1.7
Mandibule supérieure	0.881	29.4 \pm 1.4	29.3 \pm 2.0	1.944	25.9 \pm 1.8	27.2 \pm 1.8	4.811	38.6 \pm 2.0	38.4 \pm 3.0	-1.662	33.2 \pm 1.3	33.0 \pm 1.6
Mâchoire inférieure	-4.884	35.6 \pm 1.7	35.3 \pm 1.9	-2.499	32.5 \pm 1.6	33.6 \pm 2.0	-1.782	44.3 \pm 1.9	44.0 \pm 3.3	3.949	38.9 \pm 1.2	38.9 \pm 1.6
Museau	1.538	11.1 \pm 1.0	11.2 \pm 0.9	0.367	9.5 \pm 0.8	9.9 \pm 1.0	1.679	14.6 \pm 1.2	15.0 \pm 1.4	0.525	11.7 \pm 0.9	11.7 \pm 1.1
Tête	3.301	48.8 \pm 1.2	49.1 \pm 1.8	3.072	46.6 \pm 2.1	47.2 \pm 2.0	-6.679	59.1 \pm 2.0	58.4 \pm 2.9	-4.369	54.7 \pm 1.2	54.6 \pm 2.4
Hauteur du corps 1	-1.480	55.2 \pm 2.1	54.3 \pm 2.5	-0.096	55.5 \pm 2.1	54.4 \pm 2.2	0.203	71.0 \pm 3.4	68.8 \pm 3.1	**	64.6 \pm 2.0	62.3 \pm 4.7
Hauteur du corps 2	1.572	56.6 \pm 2.1	56.3 \pm 2.0	3.923	58.6 \pm 2.4	59.2 \pm 1.5	1.133	66.1 \pm 3.0	64.3 \pm 2.9	-0.303	66.2 \pm 2.3	64.8 \pm 1.7
Dorsale-caudale	-0.934	91.1 \pm 3.2	92.5 \pm 3.7	-0.371	94.3 \pm 3.8	96.0 \pm 3.5	-1.876	101.7 \pm 3.4	99.4 \pm 3.3	-5.870	105.6 \pm 2.6	102.6 \pm 2.9
Pelvienne-caudale	2.119	46.3 \pm 2.1	46.6 \pm 2.0	1.024	47.0 \pm 2.1	48.1 \pm 2.5	-2.754	53.4 \pm 1.9	51.2 \pm 1.7	0.716	52.6 \pm 2.5	51.4 \pm 3.6

¹ Échantillonnage des mois d'août et de septembre.

² Échantillonnage des mois d'octobre et de novembre.

1.4 Discussion

1.4.1 Contribution scientifique de l'étude

Cette étude a permis de confirmer que les individus littoraux arrivent sur le site de frai avant les individus pélagiques en raison d'une maturation des gonades précoce. Les concentrations plasmatiques de 11-KT et de T chez les mâles présentaient des valeurs significativement plus élevées plus tôt chez l'écotype littoral par rapport à l'écotype pélagique. Des tendances similaires ont été trouvées chez les femelles des deux écotypes pour la E_2 et la T. Comme les différences ont été trouvées à un moment précis du développement des gonades soit juste avant la période de reproduction (fin août et début septembre sous nos latitudes), le projet a permis de cibler la période critique de ce processus physiologique.

Les analyses morphologiques ont permis de confirmer que la zone de capture était une méthode adéquate pour distinguer les écotypes littoral et pélagique. En premier lieu, le dimorphisme sexuel correspond à une grande partie de la variation et s'exprime chez les deux écotypes mais de manière variable. En second lieu, le dimorphisme entre les écotypes correspond également à une partie de la variation expliquée, mais de moindre importance que le dimorphisme sexuel. Comme la forme du corps et les traits qui distinguent les écotypes sont très variables, ceci indique l'existence d'une variabilité importante inter lac et inter année.

1.4.2 Limite de l'étude

Le suivi de la maturation des gonades chez des poissons en milieu naturel représentait plusieurs défis autant au niveau de l'échantillonnage sur le terrain qu'à celui des analyses en laboratoire. Des effectifs plus élevés auraient pu contribuer à répondre plus clairement à nos objectifs. Sur le terrain, la capture de spécimens en zone pélagique s'avérait particulièrement difficile puisque cet habitat est très vaste en termes de surface et de profondeur comparativement à l'habitat littoral. Comme les individus étaient

sacrifiés, des limites d'effectif ont été imposées pour des questions de conservation. De plus, le stress de capture ainsi que les blessures infligées par les engins de pêche (filets maillants) occasionnaient parfois la mort des spécimens dans les viviers, particulièrement lorsque la température de l'eau était élevée, limitant également les effectifs. En laboratoire, les dosages d'hormone nécessitaient une quantité importante de plasma sanguin et certains échantillons n'en contenaient pas suffisamment. Enfin, comme la VTG est une protéine instable, les échantillons ne pouvaient être décongelés qu'une seule fois, c'est-à-dire qu'il n'y avait que deux répliques pour chaque individu, ce qui a également contribué à diminuer les effectifs particulièrement pour ce dosage.

1.4.3 Perspectives futures

Les résultats de cette étude permettront sans aucun doute de mieux orienter le calendrier des périodes d'échantillonnage sur le terrain pour des projets de recherche similaires dans le futur. En effet, une étude supplémentaire avec des périodes d'échantillonnage plus rapprochées juste avant la reproduction, au mois d'août et de septembre, permettrait de clarifier les résultats obtenus pour les lacs Waber et Ledoux en 2009 et 2010.

Également, les résultats de cette étude ont soulevé de nouvelles questions quant aux différences physiologiques liées à la reproduction entre les deux écotypes littoral et pélagique. Les concentrations d'E₂, plus faibles chez les individus littoraux du lac Waber comparativement aux individus pélagiques pourraient indiquer un effet néfaste de la température sur les processus de maturation des gonades comme discuté au chapitre II. Il serait donc intéressant de vérifier si les pourcentages de fécondation des œufs et les taux de survie des larves vésiculées diffèrent entre les deux écotypes en relation avec l'exposition des individus littoraux à des températures plus élevées pendant la saison de croissance.

CHAPITRE II

ARTICLE SCIENTIFIQUE

Ce manuscrit sera soumis à *Journal of Fish Biology*

Gonad maturation in two forms of lacustrine brook charr, *Salvelinus fontinalis*

Ariane Charaoui¹, Céline Audet² et Pierre Magnan^{1,3}

¹Centre de recherche sur les interactions bassins versants – écosystèmes aquatiques
(RIVE)

Université du Québec à Trois-Rivières
Trois-Rivières, Québec, Canada

²Institut des sciences de la mer de Rimouski (ISMER), Université du Québec à
Rimouski, 310 allée des Ursulines, C.P. 3300, Rimouski (Québec) Canada, G5L 3A1

³Corresponding author: Pierre Magnan, Département de chimie-biologie, Université du
Québec à Trois-Rivières, 3351 Boul. des Forges, C.P. 500, Trois-Rivières (Québec)
Canada, G9A 5H7

Tel: (819) 376-5011 poste 3375

Email: pierre.magnan@uqtr.ca

Running title: Gonad maturation in lacustrine brook charr

RÉSUMÉ

L'omble de fontaine, *Salvelinus fontinalis*, affiche un polymorphisme subtil associé aux ressources dans certains lacs du bouclier canadien, où les individus littoraux et pélagiques exploitent deux habitats distincts, la zone littorale et la zone pélagique. Un isolement reproducteur temporel partiel a été observé dans l'un de ces lacs ; les individus littoraux arrivent plus tôt sur le site de frai que les individus pélagiques. Étant donné que les individus littoraux sont exposés à un régime de température plus élevé que les individus pélagiques pendant la saison de croissance et puisque la maturation des gonades est dépendante de la température, nous avons testé l'hypothèse que les individus littoraux arrivent plus tôt sur le site de frai en raison d'une maturation des gonades précoce. Un suivi des hormones stéroïdiennes (testostérone, 11-céto-testostérone, 17 β -estradiol) et de la vitellogénine a été effectué chez les mâles et les femelles de deux lacs du bouclier canadien. Les résultats montrent que les concentrations plasmatiques de testostérone et de 11-céto-testostérone chez les mâles littoraux du lac Waber sont significativement plus élevées plus tôt durant la période précédant le frai que chez les mâles pélagiques. Les tendances étaient similaires chez les femelles de ce lac, mais aucune différence significative, ni de tendances similaires n'ont été observées au lac Ledoux, possiblement en raison d'une puissance statistique plus faible. Des analyses morphologiques ont révélé la présence de groupes morphologiquement distincts pour les deux lacs, et ont permis de classer correctement les individus de chacun des deux écotypes. Les résultats de cette étude suggèrent que les différences dans la maturation des gonades entre les individus des écotypes littoral et pélagique sont subtiles. Cependant, les différences dans les concentrations plasmatiques des hormones stéroïdiennes entre les deux écotypes ont lieu pendant une période critique, juste avant la reproduction. Une étude plus détaillée durant cette période pourrait permettre d'identifier plus clairement les différences entre les écotypes littoral et pélagique de l'omble de fontaine.

ABSTRACT

Brook charr, *Salvelinus fontinalis*, exhibit a subtle resource polymorphism in some lakes of the Canadian Shield, where littoral and pelagic individuals exploit two discrete habitats, the littoral and the open-water zones. A partial temporal reproductive isolation was observed in one of these lakes; the littoral individuals arrive earlier on the spawning ground than the pelagic ones. Because littoral individuals are exposed to a higher thermal regime than pelagic ones during the growing season and that gonad maturation is temperature-dependent, we tested the hypothesis that littoral individuals arrive earlier on spawning grounds because they have precocious gonad maturation. A survey of steroid hormones (testosterone, 11-ketotestosterone, oestradiol-17 β) and vitellogenin was done in males and females of two lakes of the Canadian Shield. The results showed that plasma concentrations of testosterone and 11-ketotestosterone of littoral males from Lake Waber were significantly higher, earlier in the period preceding spawning, than for pelagic ones. A similar trend for oestradiol-17 β and testosterone was observed for the females in this lake, but no significant difference nor any similar trend were observed in Lake Ledoux, possibly due to the lower power of statistical analyses. A morphological analysis revealed distinct groups for both lakes and allowed a correct classification of individuals within each form. The results of the present study suggest that the differences between the gonad maturation of littoral and pelagic individuals are subtle. However, the differences in plasma concentrations of steroid hormones between the two forms seem to occur at a critical period, just before the spawning season. A more detailed investigation during this period could allow to identify more clearly the differences between littoral and pelagic brook charr.

Keywords: Gonad maturation, steroid hormones, resource polymorphism, brook charr

INTRODUCTION

In fish, gonad maturation is dependant of hormonal control regulated by the hypothalamus-pituitary axis, responding to environmental stimuli like temperature, photoperiod, and possibly lunar cycle (Rocha & Rocha, 2006; Takemura *et al.*, 2010). Steroid hormones (testosterone (T), 11-ketotestosterone (11-KT), oestradiol-17 β (E₂)) produced in the gonads are directly involved in this physiological process (Fostier *et al.*, 1983). The T is precursor of 11-KT in males and E₂ in females. The 11-KT is the dominant androgen in males and regulates testis development whereas E₂ is the dominant oestrogen in females and stimulates the liver to produce vitellogenin (VTG) (Barannikova *et al.*, 2004). This lipoprotein accumulates in the oocytes enabling their growth and that of the ovaries (Fostier *et al.*, 1983; Kime, 1993). In salmonids, gonad maturation of both males and females begins some months before the spawning season (King *et al.*, 2003), which occur during the fall.

Many studies have shown that an increase in water temperature promotes gonad maturation in fishes. A study on pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*), submitted to different thermal regimes, revealed that individuals from heated ponds spawned earlier than those at ambient temperature (Zieba *et al.*, 2010). King *et al.* (2003) found similar results in Atlantic salmon (*Salmo salar*); the gonad maturation in females submitted to three thermal regimes showed that 80 % of individuals maintained at 22°C ovulated 7 to 17 days before individuals submitted to 14 and 18°C thermal regimes respectively. In nature, the increase of water temperature in the Meuse River (Belgium) caused by warm influents from a nuclear power plant generated an acceleration of the reproductive cycle of the roach (*Rutilus rutilus*), and advanced the spawning season by 20 days (Mattheeuws *et al.*, 1981).

Brook charr, *Salvelinus fontinalis*, exhibit a subtle resource polymorphism in some lakes of the Canadian Shield, where the littoral and pelagic individuals exploit two discrete habitats, the littoral and the open-water zones. Previous studies have shown that littoral individuals feed mostly on zoobenthos (Bourke *et al.*, 1999), have a stout body shape (Sacotte & Magnan, 2006) and long pectoral fins (Bourke *et al.*, 1997; Dynes *et al.*, 1999; Proulx & Magnan, 2002), while pelagic individuals feed mainly on

zooplankton (Venne & Magnan, 1995; Bourke *et al.*, 1997), have a streamlined body shape (Marchand *et al.*, 2003) and short pectoral fins (Bourke *et al.*, 1997; Dynes *et al.*, 1999; Proulx & Magnan, 2002). This resource polymorphism is also supported by specific physiological performances (Proulx & Magnan, 2002; Rouleau *et al.*, 2009), foraging behaviour (Sacotte & Magnan, 2006) and parasites assemblages (Bertrand *et al.*, 2008). A recent study using radio-telemetry in a lake of this system revealed the presence of a “warm” and a “cool” thermal tactics. Although it was not possible to directly relate the warm and cold tactics to littoral and pelagic forms respectively, the authors suggested that this was the most parsimonious hypothesis (Bertolo *et al.*, 2011).

A seven years study on the timing of arrival of brook charr on the spawning ground of a Canadian Shield lake (Magnan *et al.*, in prep.) revealed that littoral individuals spawned mainly during the first two weeks of the spawning season while pelagic ones, during the last two weeks (based on morphology of individuals). Although there is some overlap between the occurrence of the two forms during the spawning season (Magnan *et al.*, in prep.), which last 5-6 weeks, this result suggests a partial reproductive isolation between them. Because the littoral individuals are presumably exposed to a higher temperature regime than the pelagic ones during the growing season (Bertolo *et al.*, 2011), the temperature could be an evolutionary driver in the evolution of this species by exasperbing the differences in the timing of gonad maturation between the two forms.

The goal of the present study was to test the hypothesis that the early arrival of the littoral individuals on the spawning ground is promoted by precocious gonad maturation than in the pelagic ones. To follow the timing of gonad maturation in the two brook charr forms, plasma concentrations of steroid hormones (T, 11-KT, E₂) and VTG were surveyed monthly, from the beginning of the growing season to the end of spawning. We also confirmed the assignment of littoral and pelagic individuals through morphometric analyses.

MATERIAL AND METHODS

Study lakes

Brook charr were captured in Lake Waber (Parc national de la Mauricie (PNCLM)); 46°45' N, 73°09' W), and in Lake Ledoux (Mastigouche Reserve; 46°38' N, 73°15' W), Québec, Canada. These lakes are characteristic small oligotrophic temperate zone lakes with respect to surface area (Lake Waber 62 ha; Lake Ledoux 11.9 ha), mean depth (Lake Waber 7 m; Lake Ledoux 5.5 m), conductivity (Lake Waber 17.5 $\mu\text{S cm}^{-1}$; Lake Ledoux 21.2 $\mu\text{S cm}^{-1}$), dissolved oxygen, thermal stratification and Secchi disk transparency (Parc Canada, unpublished data) Environnement Canada 1990; Dynes *et al.* 1999). Brook charr lives in allopatry in Lake Ledoux and in sympatry with Northern redbelly dace (*Chrosomus eos*) in Lake Waber. Brook charr is subject to sportfishing and its exploitation is rigorously controlled by the PNCLM and Mastigouche Reserve.

Fish sampling

Fish were captured with multifilament gillnets (1.8 m deep \times 38 m long, with stretched mesh of 25, 32, 38, 51, 64, and 76 mm), monofilament gillnets (mesh-sizes of 12.5 and 19.5 mm; filament diameter of 0.1 mm), and small hoop nets in both littoral (0.5-3 m depth) and pelagic (> 5 m depth) zones. We also used fishing rod in the littoral zone.

In 2009, 10 adults (≥ 20 cm fork length) from each sex were captured once a month in both littoral and pelagic zones, in Lake Waber, from June to November, for a total of 40 fish per month. In 2010, 15 adults from each sex were captured once a month in both the littoral and pelagic zones of Lakes Waber and Ledoux, from August to November, for total of 60 fish per month, per lake. However, because of elevated surface temperature, littoral individuals were caught in deeper waters (> 3 m depth) at certain periods of the growing season. During thermal stratification (June to September), the fish were caught at dusk, when each form was more susceptible to be feeding in their respective habitat (Bourke *et al.*, 1996). During the spawning season (October and November), the fish were caught in the afternoon because those ready to spawn were on

spawning grounds all around the day. In October, fish caught on the spawning ground, were considered as littoral individuals while those captured in November, as pelagic individuals (Magnan *et al.* in prep.). All fish caught were placed in a holding cage after their capture, in a depth where water temperature was $\sim 18^{\circ}\text{C}$, until the next morning. Only live and healthy individuals were kept for blood sampling (next section). This research received prior approval from the institutional Animal Care Committee of Université du Québec à Trois-Rivières (protocol approval number #2009-P.M.25).

Blood sampling and assays

The fish were first anaesthetized with MS222 (0.02%, w/v) for 2-3 minutes, then weighted and measured (fork length). Blood was sampled by caudal puncture with 1 ml sterile heparinized (100 units ml^{-1}) syringe equipped with a 25 $\frac{5}{8}$ gauge needle. Blood sample was then centrifuged at 5000 g for three minutes and plasma supernatant was split in two replicates. All caudal punctures were done between 8 am and 12 pm to avoid bias due to the circadian cycle (Crim, 1982). Plasma samples were kept on dry ice in the field and then transferred to a freezer -80°C in our laboratory. Specimens were manipulated quickly to overcome stress before being sacrificed (cervical dislocation) and to determine sex and gonad stage (mature or immature).

VTG and 11-KT were measured with ELISA kit (Biosense Laboratories, Cayman Chemical), while E_2 and T with radioimmunoassay kit (^{125}I , ICN Biomedicals Inc.). Serial dilutions were tested for all hormones and VTG to confirm the response linearity. Intra-assay and inter-assay coefficients of variation were between 0.05 and 0.17, and between 0.02 and 0.20 respectively.

Morphological analysis

A Canon Powershot SX210 IS camera (14X optical zoom) mounted on a fix frame was used to photograph fish. Each specimen was first placed in a mold adjusted to their length and body shape to remove field depth on the pictures. Fins were stretched and pinned onto the mold. A 30-cm ruler was used as scale indicator.

Geometric (shape) and traditional (traits) morphometric analyses (Fischer-Rousseau *et al.*, 2010) were used to confirm the correct assignment of littoral and pelagic forms to each specimen. Geometric morphometrics were done with the thin plate-spline method (Zelditch *et al.*, 2004), using the TPS softwares (TpsDig, TpsRelw and TpsRegr; (Rohlf, 2003a; Rohlf, 2003b; Rohlf, 2004). This method models changes in body shape as deformations. Components describing shape are decomposed into uniform and non-uniform scores, which are composed of partial warps (Zelditch *et al.*, 2004). Landmarks were positioned to ensure an assemblage providing information on body shape (Fig. 1). As of traditional morphometrics, additional landmarks were positioned to measure length of body traits (snout; lower jaw; upper jaw; head length; pectoral fin; dorsal fin; body depth; caudal peduncle; dorsal fin to caudal fin; anal fin to caudal fin) (Fig. 1).

Statistical analysis

To test whether plasma concentrations of each hormone (T, 11-KT, E₂) and VTG were different between the littoral and pelagic forms during the growing season, we used nonparametric Wilcoxon Mann-Whitney test, because data did not always conform to normality and homogeneity of variances, probably due to the small sample sizes. The test was done for each month sampled before the spawning season (June to September). Statistical analyses were performed on each lake separately but the data of 2009 and 2010 from Lake Waber were considered in the same analysis because there was no evidence of a year effect. However, because sampling in Lake Waber was not always done at the same time between the two years, except for November, the time of sampling (beginning vs. end) was taken into account as sampling periods in statistical analysis.

We used discriminant function analyses to analyse the geometric and traditional morphometrics. Analyses were done on each dataset separately (Lake Waber 2009, Lake Waber 2010 and Lake Ledoux 2010), to reduce the unexplained variation due to the effect of lake and/or year. The body shape of individuals from both sexes and form was compared with canonical variate analysis on the standardized datasets created by Tps Relw (Rohlf, 2003a; Rohlf, 2003b; Rohlf, 2004). Each axis was tested with ANOVA to

determine whether the differences in body shape were significant. Deformation grids showing body shape of each group were obtained using TPSRegr. For traditional morphometrics, discriminant function analyses were used to test whether the differences in length of body traits were significant between forms when controlling for the effect of sex. Jackknife reclassification method was performed for both morphological methods to determine if the differences between the forms were strong enough to reassign each individual to the adequate group (form and sex). All statistical analyses were performed in the R environment (R Development Core Team, 2010).

RESULTS

Hormonal status

Plasma concentration of hormones (T, 11-KT, E₂) and VTG for males and females of both lakes were generally in the same range and exhibited a similar seasonal pattern (before and during spawning season) for both littoral and pelagic individuals; a slow rise with a drastic increase until a maximum level was reached just before spawning, followed by a decrease to initial values after spawning (Fig. 2 to 11).

Lake Waber. The T plasma concentration was significantly higher in littoral than in pelagic males at the end of August ($p = 0.026$) (Fig. 2). The 11-KT was also significantly higher for littoral than pelagic males at the end of August ($p = 0.031$) and the beginning of September ($p = 0.006$) (Fig 3). The 11-KT plasma concentration of littoral individuals was also much more variable than those of pelagic ones. No significant difference was found in plasma concentration of T (Fig. 4) and E₂ (Fig. 5) between the two forms, but littoral females tended to display higher plasma concentrations than pelagic ones, earlier preceding the spawning season, followed by decreases sooner than pelagic ones. A large variability was observed for T (both sexes), 11-KT and E₂ of both forms, starting generally in September and during the spawning season. The VTG was significantly higher in pelagic females in July ($p = 0.024$) (Fig. 6). However, because VTG was highly variable, the expected seasonal pattern was not observed for Lake Waber.

Lake Ledoux. In contrast to Lake Waber, we found no significant difference of plasma concentration of T (males and females) (Fig. 7 and 9), 11-KT (Fig. 8), E₂ (Fig. 10) and VTG (Fig. 11) between the two forms in Lake Ledoux. The seasonal pattern of both littoral and pelagic individuals exhibited a high overlap in plasma concentrations for all hormones and especially for VTG, which exhibit an imprecise seasonal pattern. A large variability was also observed for T (both sexes), 11-KT and E₂ for both forms, from September and through the spawning season.

Morphological analysis

The percents of correct reclassification of littoral and pelagic males and females to their group were significantly higher than 25% (the null hypothesis for four groups) when based on the geometric morphometrics; the percent of correct reclassification was, in average, between 43% and 61% for these groups (Table 1). Traditional morphometrics also exhibit significant percent of correct reclassification for both forms (higher than 50 % for two groups) but to a lesser degree than geometric morphometrics; the percentage of correct reclassification was, in average, between 54% and 62% for these groups (Table 1).

Canonical variate analysis on body shape measured with geometric morphometrics showed significant differences for all datasets (Lake Waber 2009, Lake Waber 2010 and Lake Ledoux 2010; models and axis $p = 0.005$). The larger part of the explained variation is due to the effect of sex on axis 1, which accounts for 25.1% for Lake Waber 2009 (Fig. 12), 25.4% for Lake Waber 2010 (Fig. 13) and 27.9% for Lake Ledoux 2010 (Fig. 14). The most part of the explained variation on axis 2 is due to the effect of form and accounts for 18.5% for Lake Waber 2009 (Fig. 12), 19.2% for Lake Waber 2010 (Fig. 13) and 16.4% for Lake Ledoux 2010 (Fig. 14). A part of the variation is also explained by the axis 3 but to a lesser extent (12.3% for Lake Waber 2009, 15.9% for Lake Waber 2010 and 6.2% for Lake Ledoux 2010; not shown). Roughly half of the variation is unexplained by our models.

Deformation grids describing body shape for each group were amplified by a factor of three to highlight the subtle differences between forms (Fig. 12, 13, and 14). The main differences between sexes (axis 1) include longer snout and higher body depth for pelagic males than pelagic females from Lake Waber 2009 (Fig. 12) and Ledoux 2010 (Fig. 14). Males and females of the littoral form exhibit similar body shape in these datasets. However, pelagic males, and to a lesser extent the pelagic females, have a longer snout than littoral ones in Lake Waber 2009 (Fig. 12) and Ledoux 2010 (Fig. 14). For Lake Waber in 2010 (Fig. 13), the difference between sexes (axis 1) is also characterised by males having a longer snout than females, but in this case, it is noticeable only in the littoral form. In contrast to individuals from Lake Waber 2009 and Lake Ledoux 2010, difference between forms (axis 2) is characterised by longer snout in

the littoral than in pelagic males and females. However, there is a large overlap of the canonical scores of males on axis 2, suggesting similar body shape between forms. Canonical scores in littoral females on axis 1 suggest a more masculine body shape. In this population, grids from pelagic males and females reflect similar body shape.

Discriminant function analysis based on traditional morphometrics also showed significant differences between littoral and pelagic forms for males and females from all datasets ($p < 0.05$; Fig. 15).

DISCUSSION

Hormonal status

The seasonal patterns (before and during spawning season) of plasma concentration of T, 11-KT and E₂ of males and females in both study lakes are generally consistent with those found in literature for salmonids (Tam *et al.*, 1986; Borg, 1994; Frantzen *et al.*, 1997; Tveiten *et al.*, 1998; de Montgolfier *et al.*, 2009). It has been shown that these changes are related to specific stages of gonad maturation (Tam *et al.*, 1986; Frantzen *et al.*, 1997). The drastic increase of plasma concentrations just before spawning in September is related to a rapid growth phase of gonads (Borg, 1994; Frantzen *et al.*, 1997). The fact that these concentrations fall spontaneously afterward (Tam *et al.*, 1986; Frantzen *et al.*, 1997; Tveiten *et al.*, 1998) and that spawning last over 5-6 weeks could explain the large variability observed during spawning season for all hormones. However, the overall variability in values of VTG, making the seasonal pattern imprecise for Lake Ledoux and almost absent for Lake Waber, is less likely associated to maturation stages. The seasonal pattern of VTG reported in literature generally correlate with the hormones mentioned above (Tam *et al.*, 1986). In contrast, the variability observed in our study could rather be explained by the instability of the VTG molecule. Although care has been taken to insure adequate preservation of plasma samples during laboratory work (dilutions kept on ice), it is possible that their quality has been impaired during processing or storage. Otherwise, the similar ranges of plasma concentrations of hormones and VTG observed in brook charr from both study lakes suggest that gonad maturation of these two populations are synchronized and therefore comparable.

The plasma concentrations of 11-KT in littoral males from Lake Waber was significantly higher, earlier in the period preceding spawning, than in pelagic ones. Older and larger salmonids males have generally higher plasma concentrations of 11-KT than smaller ones (Borg, 1994). However, because the length of individuals was standardized to > 20 cm in our study and that the variation of individuals length was small (Lake Waber: mean: 25.3 cm; SD: 2.9 cm; range: 20.1-33.1 cm; Lake Ledoux: mean: 28.1 cm; SD: 4.4 cm; range: 20.1-39.0 cm), it is unlikely that this factor could

explain the difference between the two forms. In this context, our results suggest a time lag between gonad maturation in males from both forms, supporting our hypothesis of precocious maturation of littoral individuals from Lake Waber. The large variability in plasma concentrations of 11-KT for littoral individuals before the spawning season contrasts with that observed in pelagic ones. This could be explained by the fact that littoral individuals are exposed to more diverse environmental conditions, due to their daily excursions between the littoral and pelagic habitats (Bertolo *et al.*, 2011). The results of 11-KT should correlate with those of T within each form because these hormones act together during the maturation process (Borg, 1994; de Montgolfier, 2009; Barannikova *et al.*, 2004). The plasma concentrations of T did not follow the same trends than 11-KT in Lake Waber, although they were significantly higher in littoral than in pelagic individuals for one sampling period. This result could be due to the particularly high variability of plasma concentration of T at this sampling period. The 11-KT is more effective than T to stimulate spermatogenesis (Borg, 1994), because it increases prior to spawning while T increases mainly during early maturation (Liley & Stacey, 1983; Pottinger, 1988). In this context, our results suggest early spermatogenesis in the littoral form.

Although not significantly different, the plasma concentrations of T and particularly E₂ tended to be higher, earlier in the period preceding spawning in littoral than in pelagic females, supporting our hypothesis of precocious maturation of littoral individuals. These trends suggest precocious oocytes growth in littoral females, which is in agreement with observations of Kjesbu *et al.* (2010) in Atlantic cod (*Gadus morhua*). Females held at warmer temperatures had higher oocytes growth and spawning occurred earlier when oocytes growth was faster. However, the generally trend for lower plasma concentration of E₂ observed in littoral females from Lake Waber in the end of the growing season might be attributed to alteration of ovarian steroidogenesis caused by exposure to higher temperature. A study on two stocks of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) revealed that females that migrated through warmer waters had lower fertility, which could possibly be related to lower steroid levels (Flett *et al.*, 1991). Laboratory experiments lead to similar observations in salmonids held at higher temperature (King & Pankhurst, 2000; King *et al.*, 2003). The significantly higher plasma concentrations in

VTG of pelagic females do not support our hypothesis of precocious maturation in littoral individuals. As mentioned above, it is possible that our VTG data were altered. Nevertheless, the difference between the two forms occurred very early in the gonad maturation process, when plasma concentrations were low. Consequently, it is unlikely that this difference would be biologically significant. In addition, the unclear seasonal pattern of VTG could not support the conclusion of an earlier maturation of pelagic females.

We did not find any significant difference in the plasma concentration of T, 11-KT and E₂ and in VTG between littoral and pelagic individuals of Lake Ledoux. This could probably be due to the greater time interval among the sampling periods. It is interesting to notice that differences in plasma concentrations in males and females of Lake Waber occurred just before the spawning season, from August to October. This window could be critical in the gonad maturation process. In the light of these observations, it is possible that our sampling periods missed that critical window in Lake Ledoux. Consequently, any differences in plasma concentrations of hormones and VTG in the two forms might have been confounded. A finer sampling step would have been necessary to detect any difference between the two forms.

Morphological analysis

Results of both geometric and traditional analysis allowed to identify two morphologically distinct groups in the two study lakes and years. The results also showed that the reclassification of individuals based on the zone of capture (littoral vs. pelagic) allowed to corroborate our a priori classification of these into “littoral” and “pelagic” individuals. Geometric analysis provided higher percent of reclassifications than the traditional one. Changes in body shape are more complex than fin size, which is consistent with swimming ability (Fischer-Rousseau *et al.*, 2010).

The within-population difference in body shape was mainly due to sex and to a lesser extent, to the zone of capture (littoral vs. pelagic). Sexual dimorphism is well known in salmonids particularly during spawning season (Janhunen *et al.*, 2009). During this period, body shape of males and females can be easily differentiate, where males

develop a small hook with a deeper and flatter body and females exhibit a swollen abdomen (Power, 1980). The sexual dimorphism was detectable well before the spawning season from our morphological analyses. Interestingly, the littoral and pelagic individuals showed different degree of sexual dimorphism in the two populations (lakes Waber and Ledoux) and years (Lake Waber). The pelagic form exhibited a more contrasting sexual dimorphism in Lake Waber 2009 and Lake Ledoux 2010, while it was more important in the littoral form in Lake Waber 2010. A study on Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) showed that the degree of sexual dimorphism can be different among lakes (Knudsen *et al.*, 2007), but our study is the first to show that it can also differs between forms and years.

Morphological differences attributable to the form were lower than those related to sex, possibly because the resource polymorphism is known to be subtle in brook charr populations of the Canadian Shield (Bourke *et al.*, 1997). Deformation grids describing body shape reveal similar differences between forms for Lake Waber 2009 and Lake Ledoux 2010. Pelagic individuals exhibited a longer snout which could promote a fusiform body shape, a characteristics assumed to be more efficient for cruising in the water column when searching for zooplankton (Webb, 1975). Skúlason *et al.* (1999) also reported that other planktivorous species have a pointed snout. In Lake Waber 2010, the large overlap in body shape of littoral and pelagic males as well as between males and females of the littoral form suggest an important variability in fish morphology in this lake, possibly due to less contrasting conditions between littoral and pelagic habitats.

Almost half of the variation in body shape and morphological traits was unexplained in our study, suggesting that factors other than sex and form account for morphological differences between individuals. In the context of our study, it is likely that some littoral individuals were captured in the pelagic zone as they returned in this habitat at sunrise, presumably for thermoregulation (Bertolo *et al.*, 2011), thus decreasing the percent of correct reclassification of individuals into their form.

CONCLUSION

The results of the present study suggest that differences between gonad maturation of the littoral and pelagic forms are subtle. The earlier maturation of the littoral than pelagic males was significant for 11-KT in Lake Waber and similar trends were observed for females of this lake. However, the differences in plasma concentrations of steroid hormones between the two forms seem to occur at a critical period just before the spawning season. A more detailed investigation during this period could allow to identify more clearly the differences between littoral and pelagic brook charr.

It is predicted that epilimnion temperature as well as the duration of the thermal stratification will increase in many Boreal Shield Lakes with global warming (Keller, 2007). These changes in thermal regime might affect the timing of spawning of species inhabiting these lakes. For example, a 19-yrs survey revealed that roach (*Rutilus rutilus*) from Lake Geneva (Switzerland and France) advanced its spawning from 15 days, possibly in association with an increment of 2 °C in water temperature in May (Gillet & Quetin, 2006). In this context, warmer temperature of the epilimnion and the lengthening of the thermal stratification could exacerbate the difference between littoral and pelagic brook charr and accelerate their speciation. On the other hand, it is unknown how wild stocks will react to these changes because there seems to be a threshold over which deleterious effects are observed on gonad maturation. Previous studies have shown that fertility of females as well as quality and viability of the eggs may be impaired by elevated temperature in salmonids (Flett *et al.*, 1991; Gillet, 1991; Pankhurst *et al.*, 1996; King *et al.*, 2003). Based on the current knowledge, one cannot predict if wild stocks will physiologically adapt or adopt different behavioural strategies to account for these future thermal regimes.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thanks H. Plamondon, G. Pepin, D. Schelling, S. Bourque, M. Naoui for their field assistance, and M. Plante and F. Auger from the Parc national de la Mauricie (PNLM) for their invaluable logistic support. We also thank to A. Bertolo, M. Pépino and P. Massicotte for their help with statistical analyses. This research was supported by grants from the Natural Science and Engineering Research Council (NSERC) to C. Audet and P. Magnan.

REFERENCES

- Barannikova, I. A., Bayunova, L. V. & Semenkova, T. B. (2004). Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and oestradiol-17 beta in three species of sturgeon during gonadal development and final maturation induced by hormonal treatment. *Journal of Fish Biology* **64**, 1330-1338.
- Bertolo, A., Pépino, M., Adams, J. & Magnan, P. (2011). Behavioural thermoregulatory tactics in lacustrine brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *PLoS ONE* in press.
- Bertrand, M., Marcogliese, D. J. & Magnan, P. (2008). Trophic polymorphism in brook charr revealed by diet, parasites and morphometrics. *Journal of Fish Biology* **72**, 555-572.
- Borg, B. (1994). Androgens in teleost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology* **109**, 219-245.
- Bourke, P., Magnan, P. & Rodriguez, M. A. (1996). Diel locomotor activity of brook charr, as determined by radiotelemetry. *Journal of Fish Biology* **49**, 1174-1185.
- Bourke, P., Magnan, P. & Rodriguez, M. A. (1997). Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. *Journal of Fish Biology* **51**, 783-794.
- Bourke, P., Magnan, P. & Rodriguez, M. A. (1999). Phenotypic responses of lacustrine brook charr in relation to the intensity of interspecific competition. *Evolutionary Ecology* **13**, 19-31.
- Crim, L. W. (1982). Environmental modulation of annual and daily rhythms associated with reproduction in teleost fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **39**, 17-21.
- de Montgolfier, B., Faye, A., Audet, C. & Cyr, D. G. (2009). Seasonal variations in testicular connexin levels and their regulation in the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *General and Comparative Endocrinology* **162**, 276-285.
- Dynes, J., Magnan, P., Bernatchez, L. & Rodriguez, M. A. (1999). Genetic and morphological variation between two forms of lacustrine brook charr. *Journal of Fish Biology* **54**, 955-972.
- Environnement Canada. (1990). Synthèse et analyse des ressources naturelles, Parc national de la Mauricie. Parcs Canada. Service de la conservation des ressources naturelles. Région du Québec.

- Fischer-Rousseau, L., Chu, K. P. & Cloutier, R. (2010). Developmental plasticity in fish exposed to a water velocity gradient: A complex response. *Journal of Experimental Zoology Part B-Molecular and Developmental Evolution* **314B**, 67-85.
- Flett, P. A., Munkittrick, K. R., Vanderkraak, G. & Leatherland, J. F. (1991). Reproductive problems in Lake Erie coho salmon. In *Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, A. P. Scott, J. P. Sumpter, D. E. Kime and M. S. Rolfe), 151-153.
- Fostier, A., Jalabert, B., Billard, R., Breton, B. & Zohar, Y. (1983). The gonadal steroids. In *Fish Physiology and Biochemistry*, 9. Reproduction, Part A: Endocrine Tissues and Hormones. W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson, 277-372. Academic Press, Inc.
- Frantzen, M., Johnsen, H. K. & Mayer, I. (1997). Gonadal development and sex steroids in a female Arctic charr broodstock. *Journal of Fish Biology* **51**, 697-709.
- Gillet, C. (1991). Egg production in an Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) brood stock: Effects of temperature on the timing of spawning and the quality of eggs. *Aquatic Living Resources* **4**, 109-116.
- Gillet, C. & Quetin, P. (2006). Effect of temperature changes on the reproductive cycle of roach in Lake Geneva from 1983 to 2001. *Journal of Fish Biology* **69**, 518-534.
- Janhunen, M., Peuhkuri, N. & Piironen, J. (2009). Morphological variability among three geographically distinct Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) populations reared in a common hatchery environment. *Ecology of Freshwater Fish* **18**, 106-116.
- Keller, W. (2007). Implications of climate warming for Boreal Shield lakes: a review and synthesis. *Environmental Reviews* **15**, 99-112.
- Kime, D. E. (1993). Classical and non classical reproductive steroids in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **3**, 160-180.
- King, H. R. & Pankhurst, N. W. (2000). Ovulation of Tasmanian Atlantic salmon maintained at elevated temperatures: implications of climate change for sustainable industry development. In *Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, B. Norberg, O. S. Kjesbu, G. L. Taranger, E. Andersson and S. O. Stefansson), 396-398. Bergen: John Grieg A/S.

- King, H. R., Pankhurst, N. W., Watts, M. & Pankhurst, P. M. (2003). Effect of elevated summer temperatures on gonadal steroid production, vitellogenesis and egg quality in female Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* **63**, 153-167.
- Kjesbu, O. S., Righton, D., Kruger-Johnsen, M., Thorsen, A., Michalsen, K., Fonn, M. & Witthames, P. R. (2010). Thermal dynamics of ovarian maturation in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **67**, 605-625.
- Knudsen, R., Amundsen, P. A., Primicerio, R., Klemetsen, A. & Sorensen, P. (2007). Contrasting niche-based variation in trophic morphology within Arctic charr populations. *Evolutionary Ecology Research* **9**, 1005-1021.
- Liley, N. R. & Stacey, N. E. (1983). Hormones, pheromones, and reproductive behavior in fish. In *Fish Physiology*, 9. Reproduction, Part B: Behavior and Fertility Control. (W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson), 1-63. Academic Press, Inc.
- Marchand, F., Magnan, P. & Boisclair, D. (2003). Differential time budgets of two forms of juvenile brook charr in the open-water zone. *Journal of Fish Biology* **63**, 687-698.
- Mattheeuws, A., Genin, M., Detollenaere, A., Micha, J. C. & Mine, Y. (1981). Study of the reproduction of the roach (*Rutilus rutilus*) and on the effects of an elevation in the temperature of the Meuse on that reproduction. *Hydrobiologia* **85**, 271-282.
- Pankhurst, N. W., Purser, G. J., VanDerKraak, G., Thomas, P. M. & Forteach, G. N. R. (1996). Effect of holding temperature on ovulation, egg fertility, plasma levels of reproductive hormones and in vitro ovarian steroidogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **146**, 277-290.
- Pottinger, T. G. (1988). Seasonal variation in specific plasma- and target-tissue binding of androgens, relative to plasma steroid levels, in the brown trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology* **70**, 334-344.
- Power, G. (1980). The brook charr, *Salvelinus fontinalis*. In *Charrs: Salmonid Fishes of the Genus Salvelinus*, B. E. K. eds), pp. 141-203. The Hague: Dr. W. Junk Publishers.
- Proulx, R. & Magnan, P. (2002). Physiological performance of two forms of lacustrine brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in the open-water habitat. *Environmental Biology of Fishes* **64**, 127-136.

- R Development Core Team. (2010). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0 [<http://www.R-project.org>].
- Rocha, M. J. & Rocha, E. (2006). Morphofunctional aspects of reproduction from synchronous to asynchronous fishes: An overview. In *Fish Endocrinology*, Vol. 2. 18.(M. Reinecke, G. Zaccone and B. G. K. eds), pp. 571-624. Science Publishers.
- Rohlf, F.J. (2003a). TpsDIG32. (freeware at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).
- Rohlf, F.J. (2003b). Tps Relw. (freeware at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).
- Rohlf, F.J. (2004) TpsRegr. (freeware at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).
- Rouleau, S., Glémet, H. & Magnan, P. (2009). Effects of morphology on swimming performance in wild and laboratory crosses of brook trout ecotypes. *Functional Ecology* 1-12.
- Sacotte, S. & Magnan, P. (2006). Inherited differences in foraging behaviour in the offspring of two forms of lacustrine brook charr. *Evolutionary Ecology Research* 8, 843-857.
- Skúlason, S., Snorrason, S. S. & Jonsson, B. (1999). Sympatric morphs, populations and speciation in freshwater fish with emphasis on Arctic charr. In *Evolution of biological diversity*, A. E. Magnuran and R. May): Oxford University Press.
- Takemura, A., Rahman, M. S. & Park, Y. J. (2010). External and internal controls of lunar-related reproductive rhythms in fishes. *Journal of Fish Biology* 76, 7-26.
- Tam, W. H., Roy, R. J. J. & Makaran, R. (1986). Ovarian cycle and plasma concentration of estrogen and vitellogenin in brook trout (*Salvelinus fontinalis*, Mitchill). *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 64, 744-751.
- Tveiten, H., Mayer, I., Johnsen, H. K. & Jobling, M. (1998). Sex steroids, growth and condition of Arctic charr broodstock during an annual cycle. *Journal of Fish Biology* 53, 714-727.
- Venne, H. & Magnan, P. (1995). The impact of intraspecific and interspecific interactions on young-of-the-year brook charr, in temperate lakes. *Journal of Fish Biology* 46, 669-686.

- Webb, P. W. (1975). Hydrodynamics and energetics of fish propulsion. *Fisheries Research Board of Canada Bulletin* **190**, 1-159.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D. & Fink, W. L. (2004). Geometric morphometrics for biologists: A primer. Elsevier Academic Press, 443.
- Zieba, G., Fox, M. G. & Copp, G. H. (2010). The effect of elevated temperature on spawning of introduced pumpkinseed *Lepomis gibbosus* in Europe. *Journal of Fish Biology* **77**, 1850-1855.

Table 1. Percent of correct reclassification of littoral and pelagic individuals based on Jackknife reclassification method by geometric (null hypothesis = 25%) and traditional (null hypothesis = 50%) morphometrics. Numbers in parentheses are sample sizes.

Dataset	Geometric morphometrics					Traditional morphometrics					
	Male		Female		Mean	Male		Mean	Female		Mean
	L	P	L	P		L	P		L	P	
Lake Waber 2009	65 (24)	62 (35)	57 (25)	59 (26)	61	42 (23)	63 (36)	56	53 (22)	59 (26)	56
Lake Waber 2010	56 (22)	45 (18)	44 (14)	63 (16)	51	57 (26)	38 (18)	50	50 (17)	57 (19)	54
Lake Ledoux 2010	33 (22)	40 (23)	52 (22)	50 (19)	43	55 (32)	58 (35)	57	64 (28)	60 (25)	62

FIGURES CAPTIONS

Fig. 1. Position of the 18 landmarks used to characterise the body shape of littoral and pelagic brook charr with geometric morphometrics. The 11 morphological measurements used to for traditional morphometrics are indicated with dotted lines from these landmarks: Sn : snout; Lj : lower jaw; Up : upper jaw; Hl : head length; Pf : pectoral fin; Df : dorsal fin; Bd1 : body depth 1; Bd2 : body depth 2; Cp : caudal peduncle; Dc : dorsal fin to caudal fin; Ac : anal fin to caudal fin.

Fig. 2. Seasonal plasma concentrations of testosterone in males brook charr from Lake Waber during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50% (box) and 80% (whisker) quartiles of the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Data of 2009 and 2010 were considered in the same analysis (see text). Normal characters: year 2009; Bold characters: year 2010; Italic characters: data of both years. Numbers in parentheses are sample sizes.

Fig. 3. Seasonal plasma concentrations of 11-ketotestosterone in males brook charr from Lake Waber during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50% (box) and 80% (whisker) quartiles of the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Data of 2009 and 2010 were considered in the same analysis (see text). Normal characters: year 2009; Bold characters: year 2010; Italic characters: data of both years. Numbers in parentheses: sample size.

Fig. 4. Seasonal plasma concentrations of testosterone in females brook charr from Lake Waber during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50% (box) and 80 % (whisker) quartiles of the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Data of 2009 and 2010 were considered in the same analysis (see text). Normal characters: year 2009; Bold characters: year 2010; Italic characters: data of both years. Numbers in parentheses are sample sizes.

Fig. 5. Seasonal plasma concentrations of oestradiol-17 β in females brook charr from Lake Waber during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50% (box) and 80 % (whisker) quartiles of the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Data of 2009 and 2010 were considered in the same analysis (see text). Normal characters: year 2009; Bold characters: year 2010; Italic characters: data of both years. Numbers in parentheses are sample sizes.

Fig. 6. Seasonal plasma concentrations of vitellogenin in females brook charr from Lake Waber during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50% (box) and 80% (whisker) quartiles of the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Data of 2009 and 2010 were considered in the same analysis (see text). Normal characters: year 2009; Bold characters: year 2010; Italic characters: data of both years. Numbers in parentheses are sample sizes.

Fig. 7. Seasonal plasma concentrations of testosterone in males brook charr from Lake Ledoux during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50 % (box) and 80 % (whisker) quartiles of the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Numbers in parentheses are sample sizes.

Fig. 8. Seasonal plasma concentrations of 11-ketotestosterone in males brook charr from Lake Ledoux during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50% (box) and 80% (whisker) quartiles of the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Numbers in parentheses are sample sizes.

Fig. 9. Seasonal plasma concentrations of testosterone in females brook charr from Lake Ledoux during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50% (box) and 80% (whisker) quartiles of

the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Numbers in parentheses are sample sizes.

Fig. 10. Seasonal plasma concentrations of oestradiol-17 β in females brook charr from Lake Ledoux during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50% (box) and 80 % (whisker) quartiles of the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Numbers in parentheses are sample sizes.

Fig. 11. Seasonal plasma concentrations of vitellogenin in females brook charr from Lake Ledoux during all the survey (left) and enlarged, for the period before spawning season (right). Boxplot show the medians, and the 50% (box) and 80% (whisker) quartiles of the values. * indicate significant difference at $p < 0.05$. Numbers in parentheses are sample sizes.

Fig. 12. Results of canonical variates analysis on the body shape of littoral and pelagic males and females brook charr in Lake Waber 2009 (June to September). Deformation grids were amplified three times to highlight the differences.

Fig. 13. Results of canonical variates analysis on the body shape of littoral and pelagic males and females brook charr in Lake Waber 2010 (August and September). Deformation grids were amplified three times to highlight the differences.

Fig. 14. Results of canonical variates analysis on body shape of littoral and pelagic males and females brook charr in Lake Ledoux 2010 (August and September). Deformation grids were amplified three times to highlight the differences.

Fig. 15. Results of discriminant function analysis on 11 morphological measurements on males (left) and females (right) brook charr from (a) Lake Waber 2009 (June to September), b) Lake Waber 2010 (August and September), and c) Lake Ledoux 2010 (August and September).

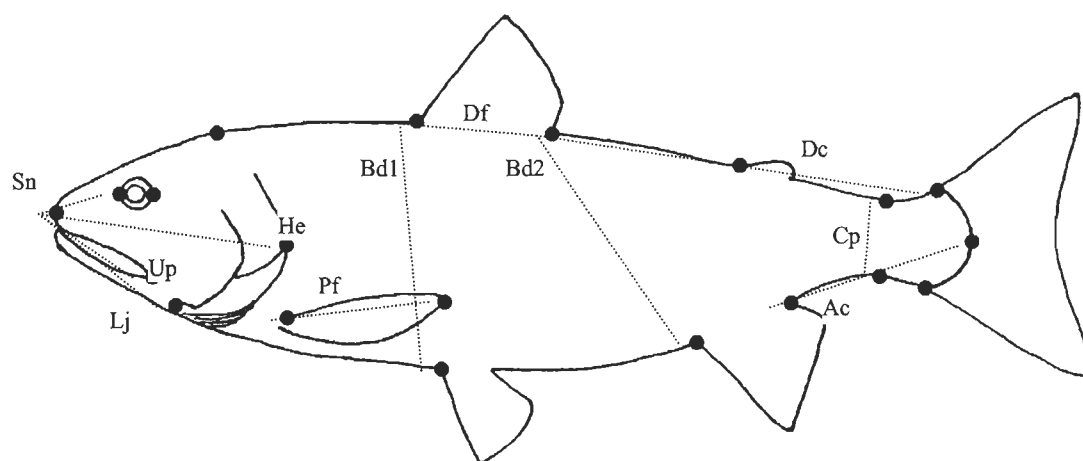


Fig. 1.

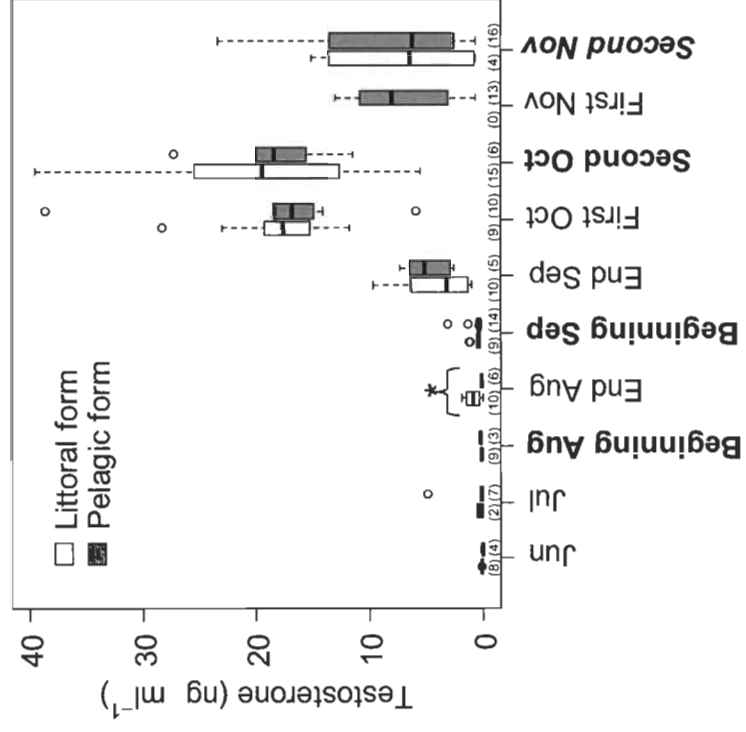
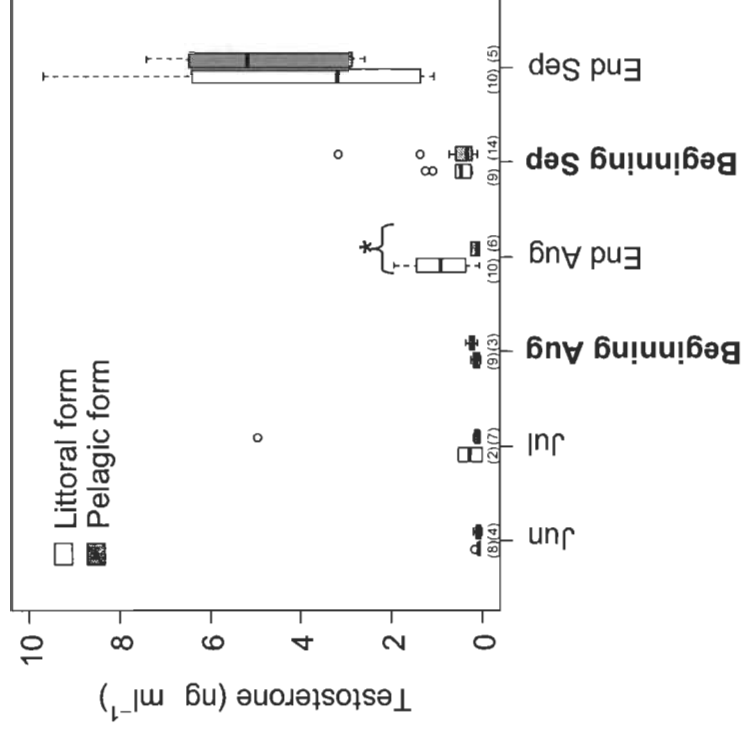
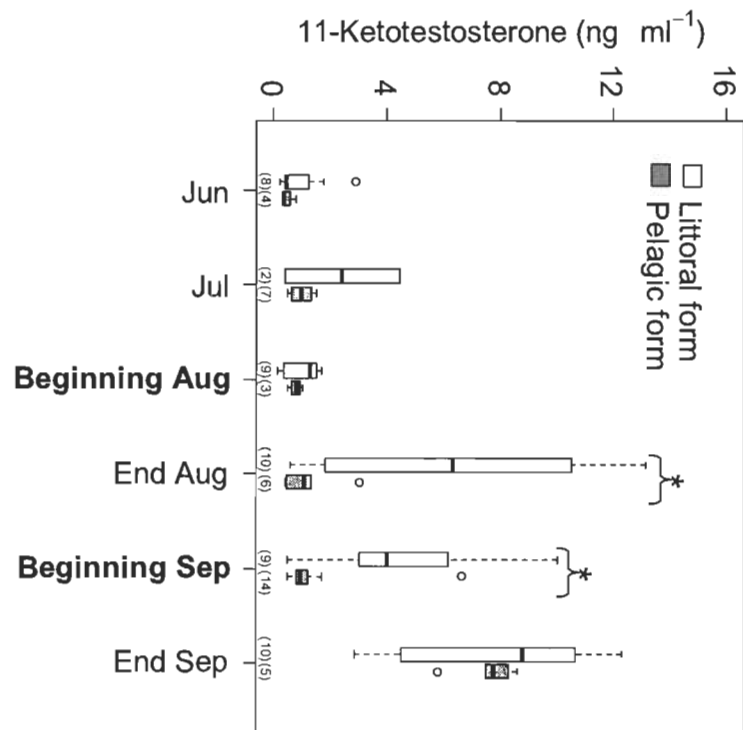
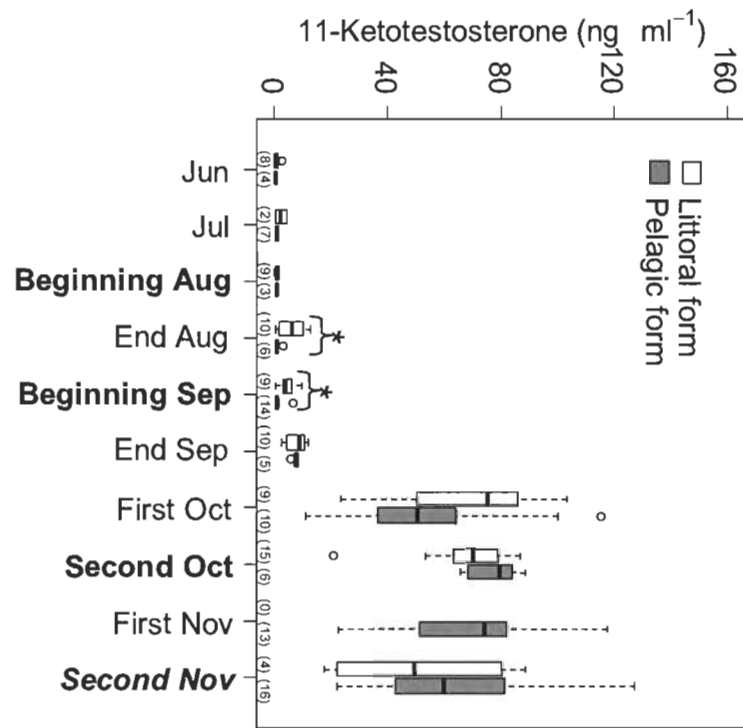


Fig. 2.

Fig. 3.



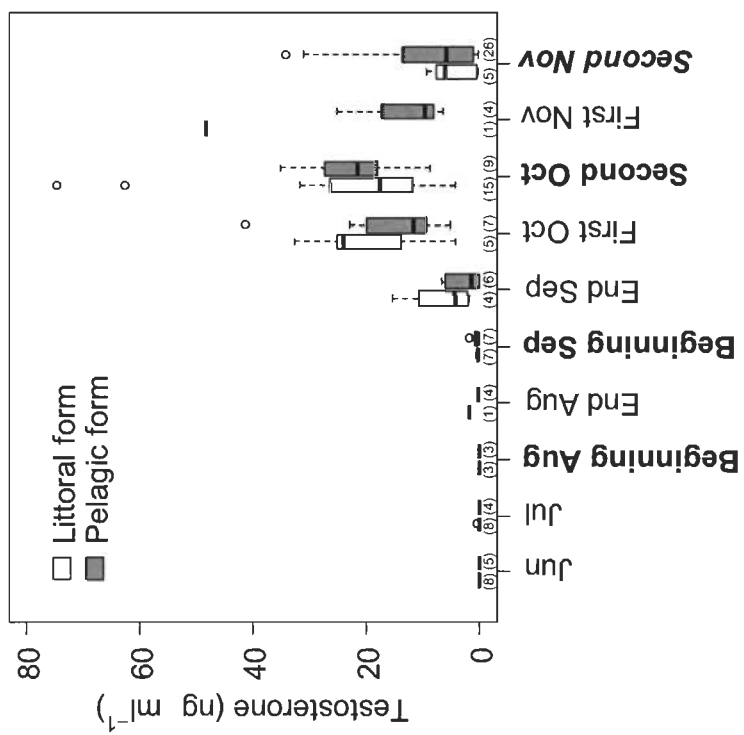
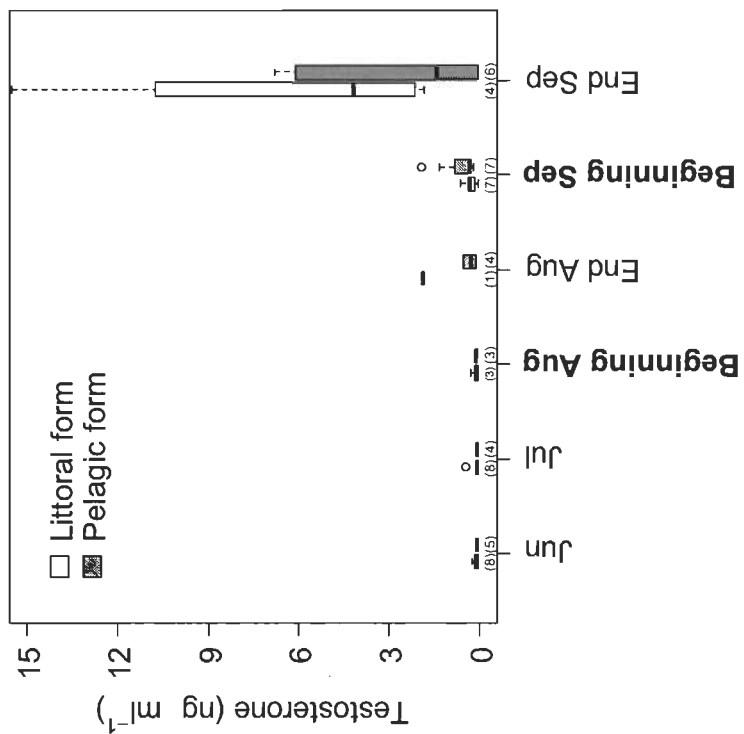


Fig. 4.

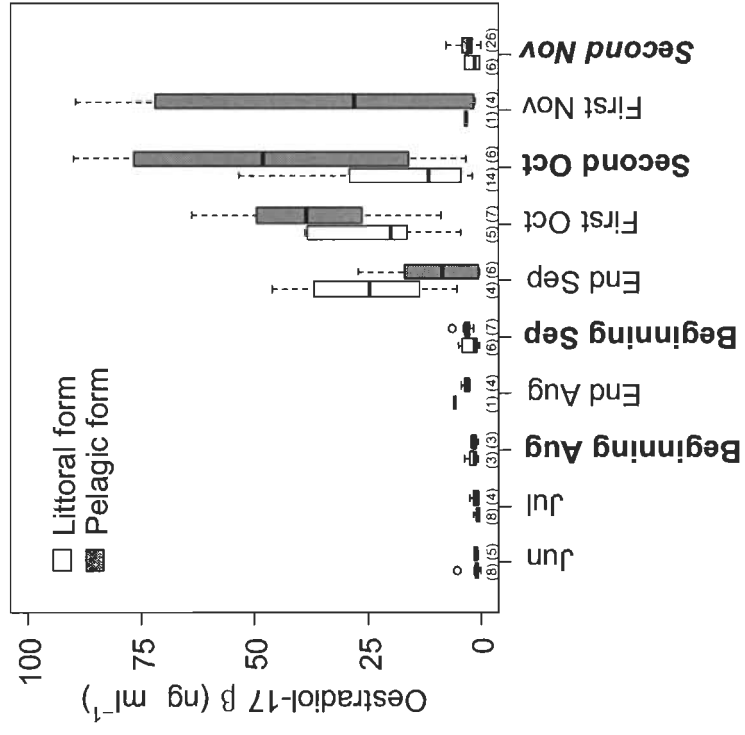
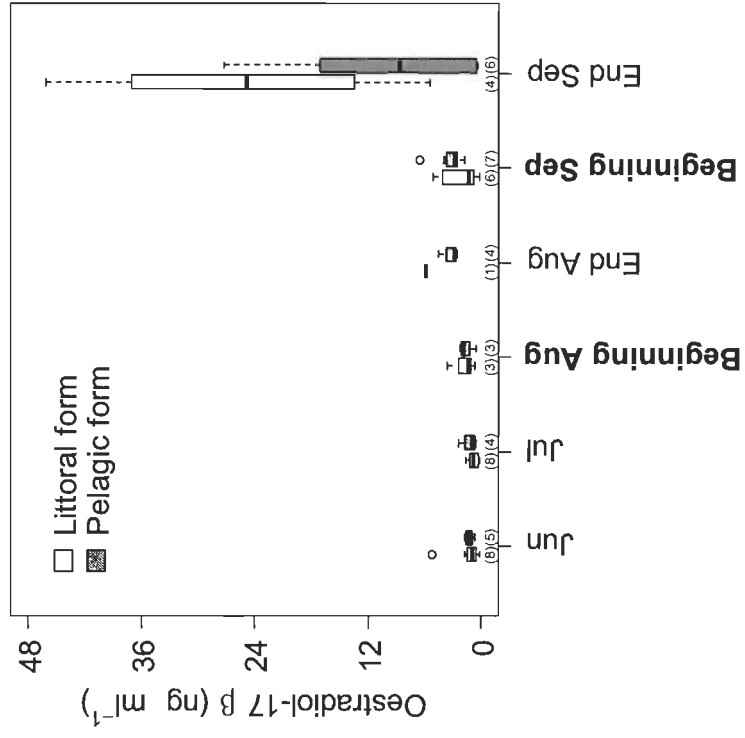


Fig. 5.

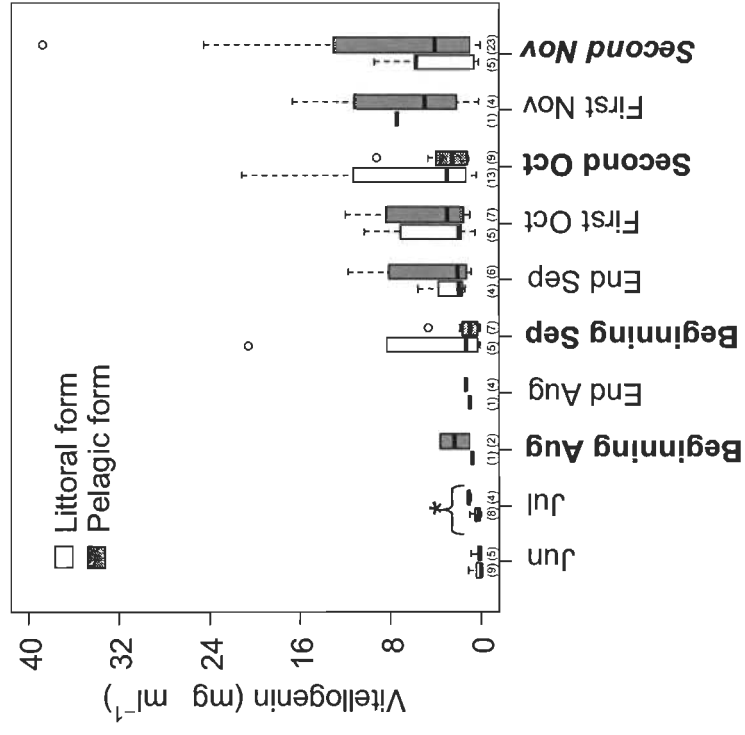
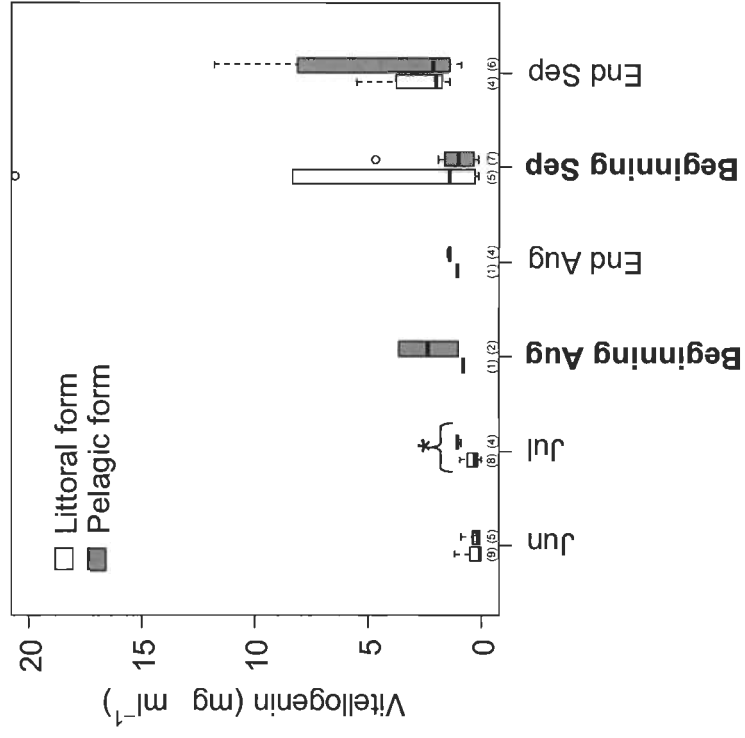


Fig. 6.

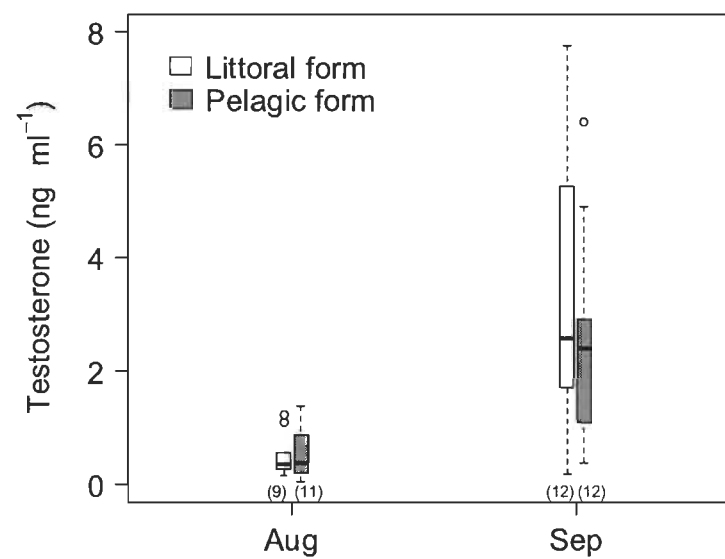
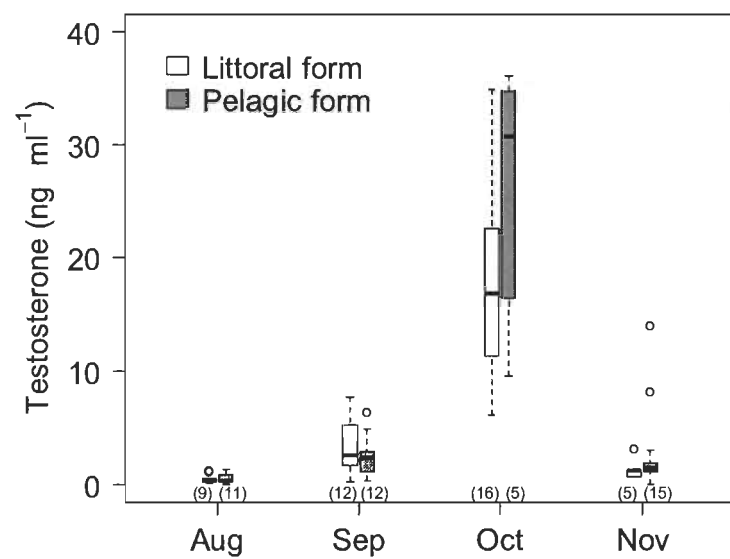


Fig. 7.

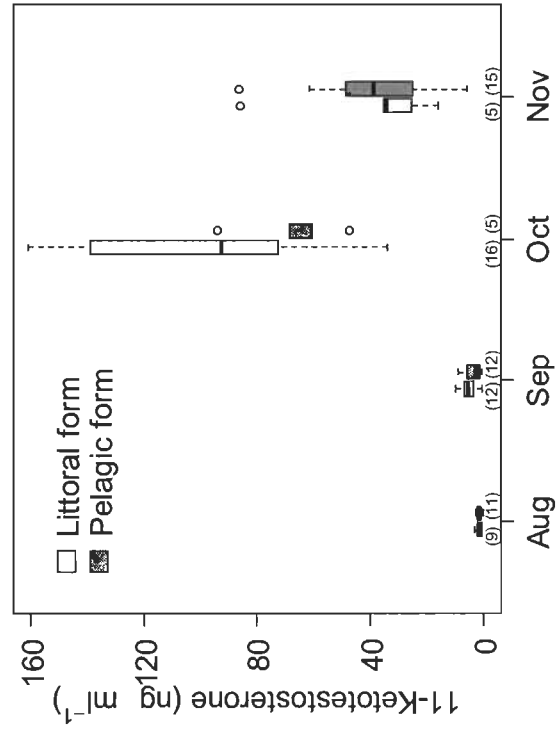
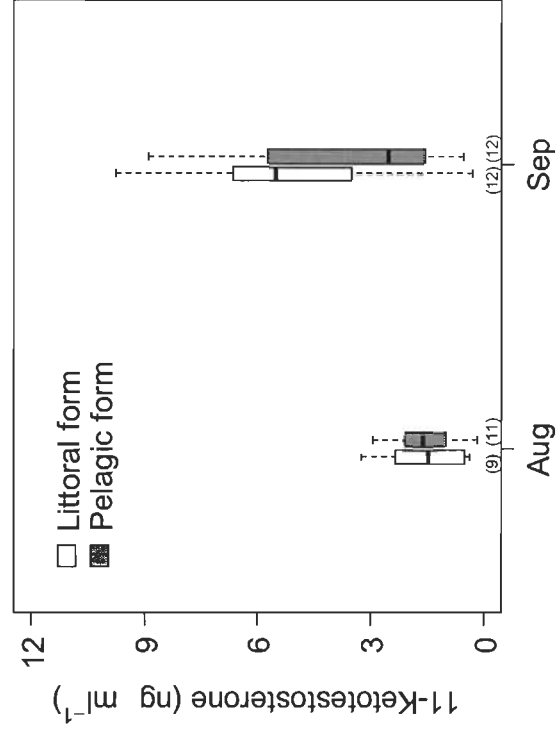


Fig. 8.

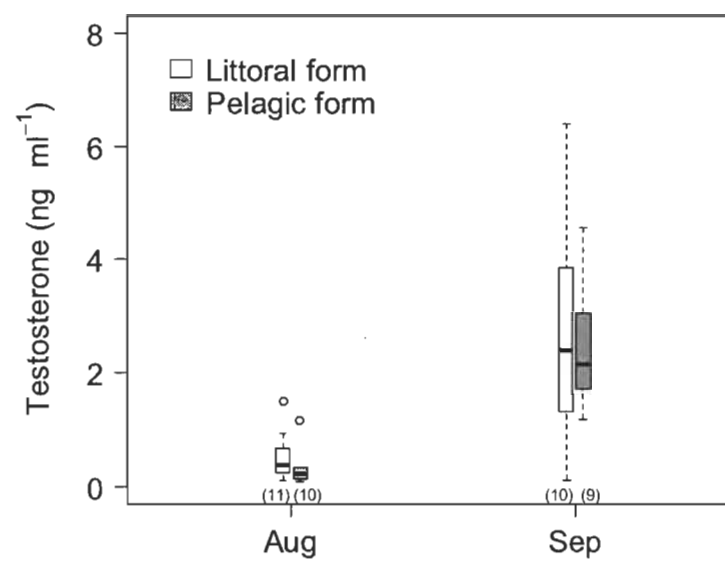
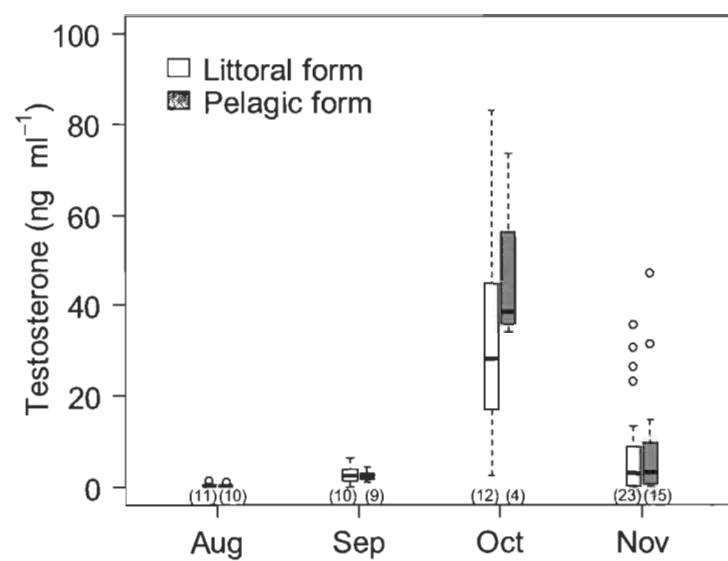


Fig. 9.

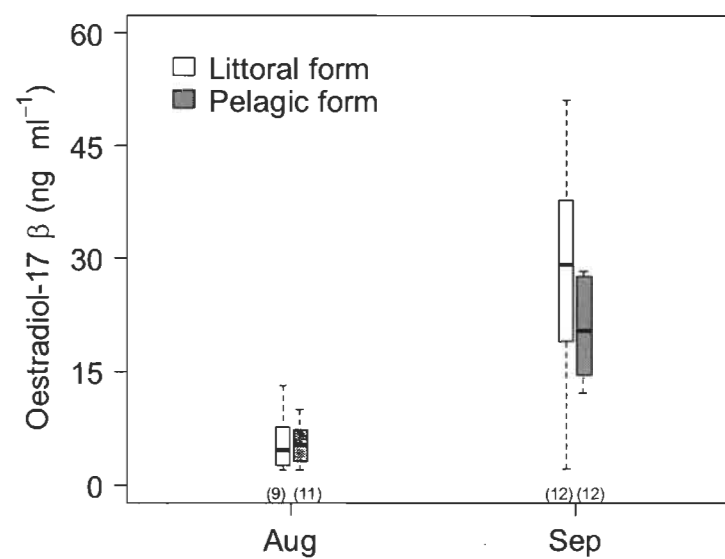
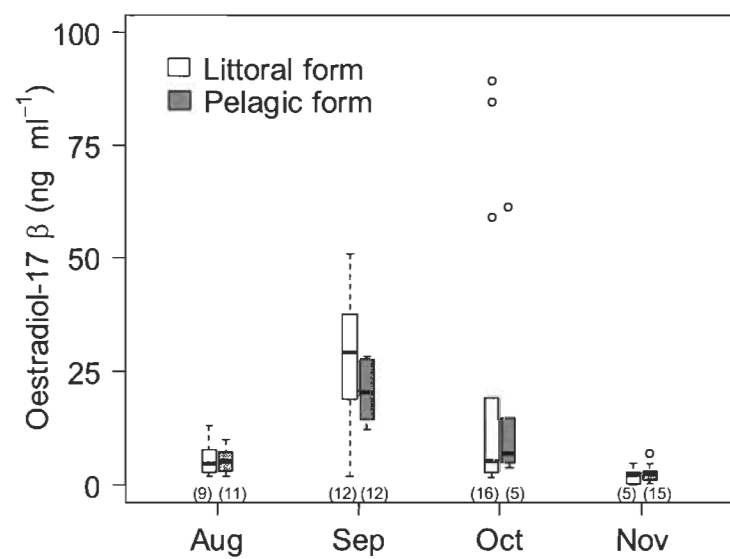


Fig. 10.

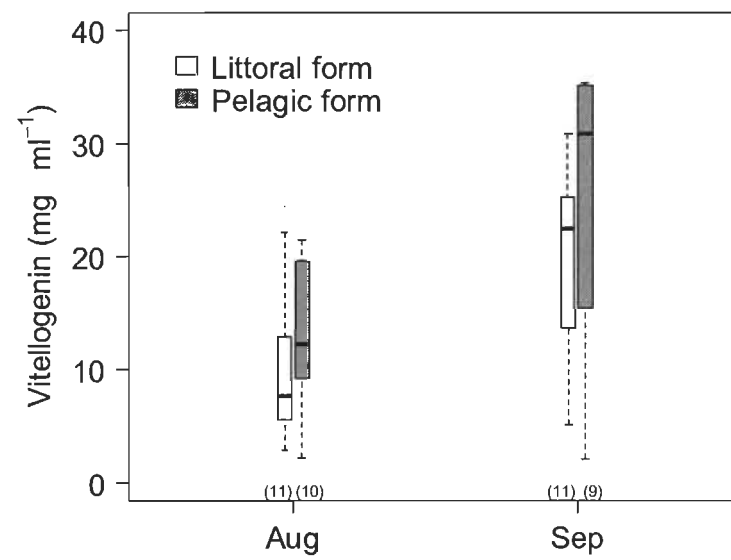
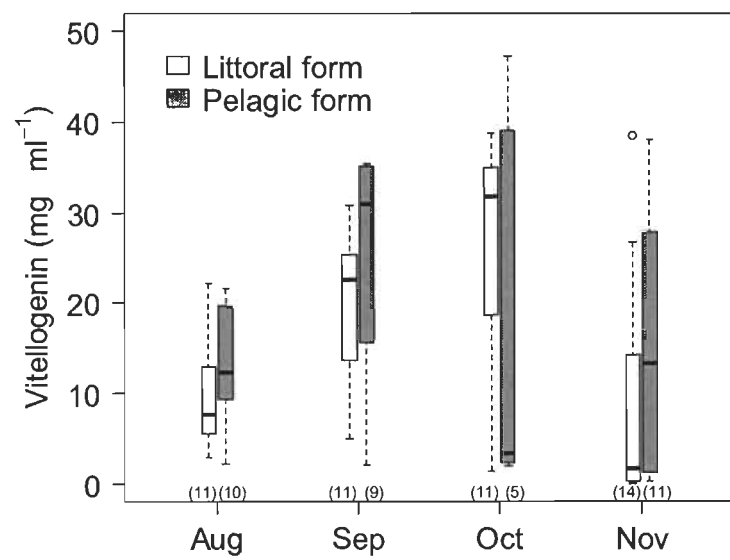


Fig. 11.

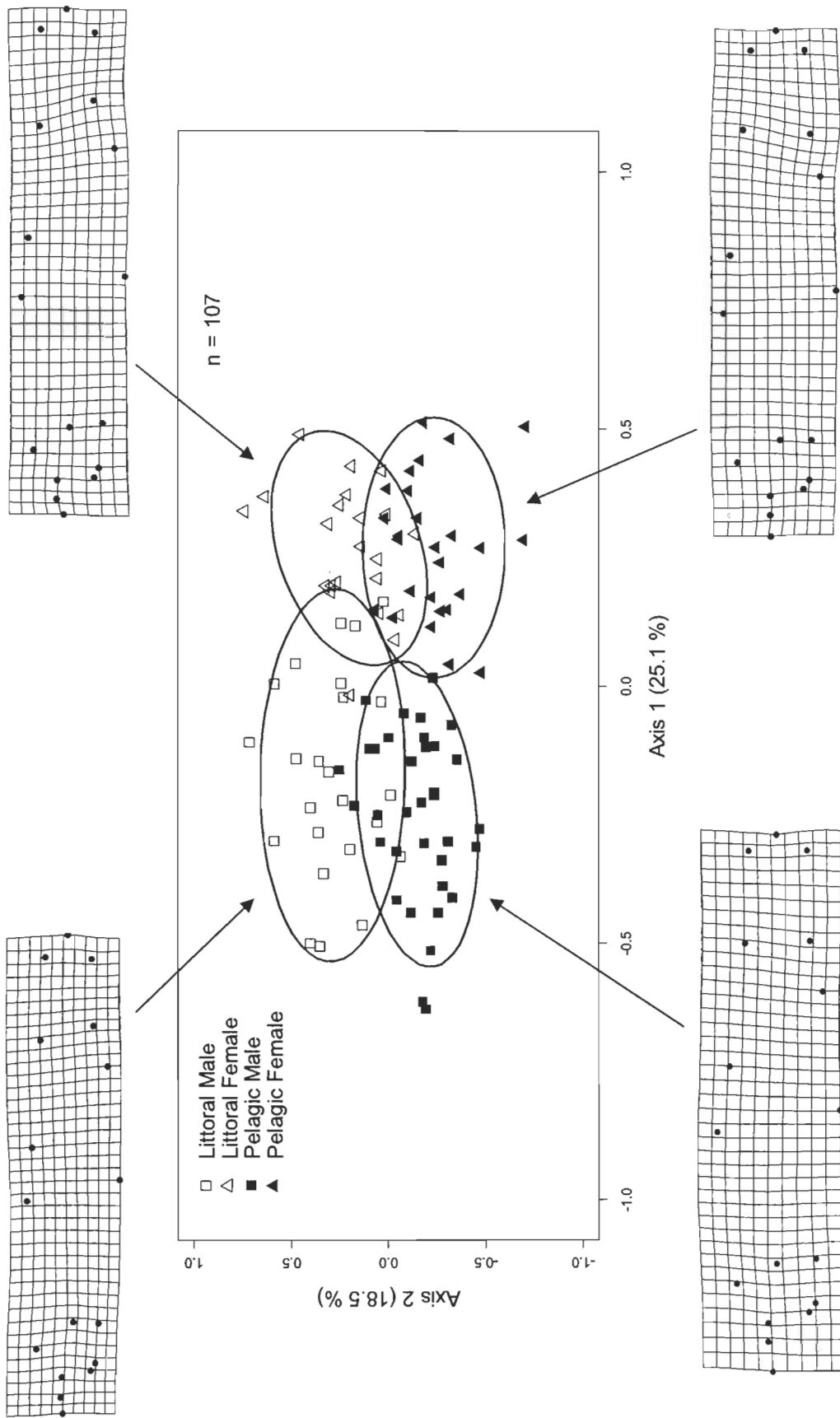


Fig. 12.

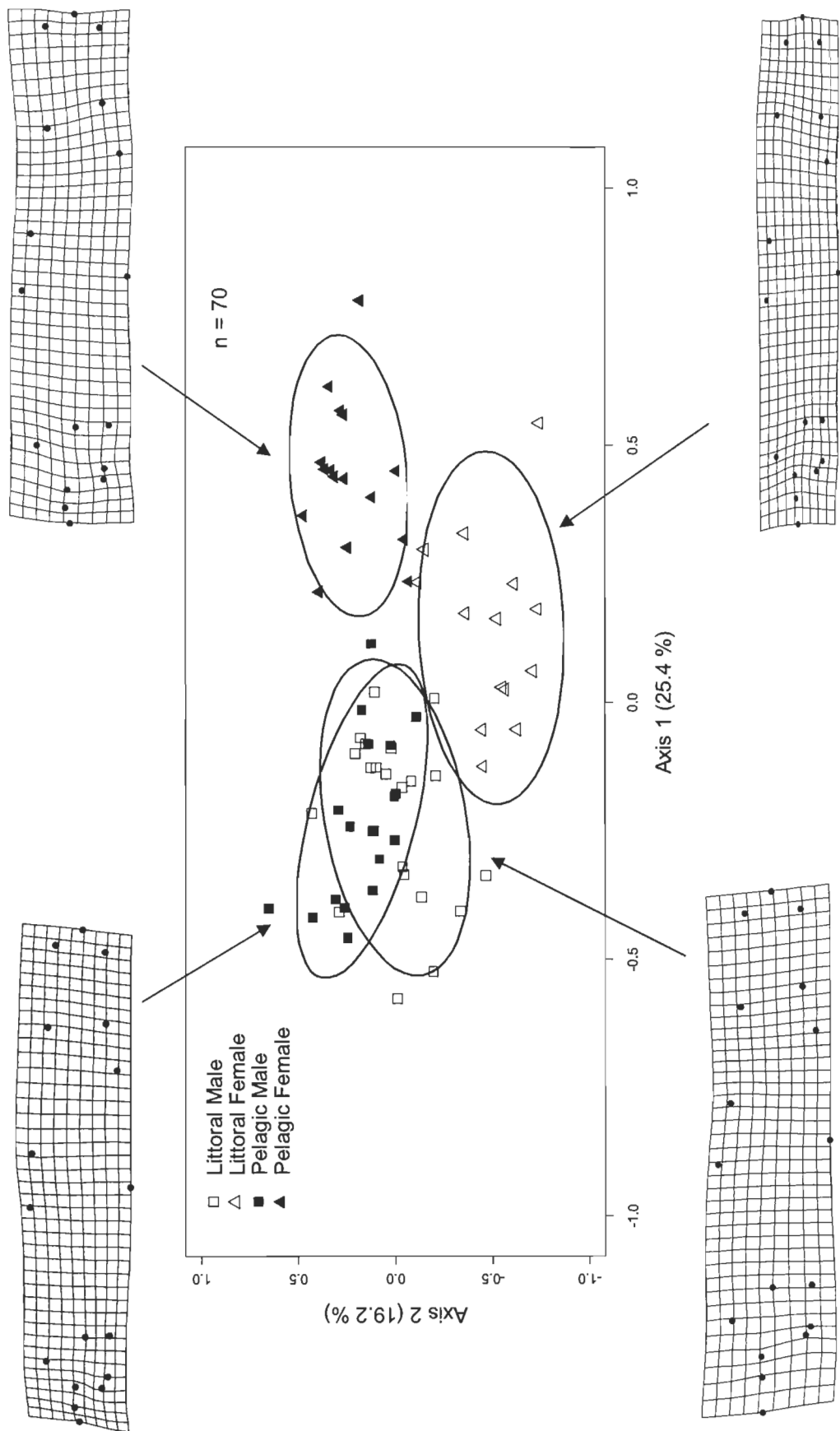


Fig. 13.

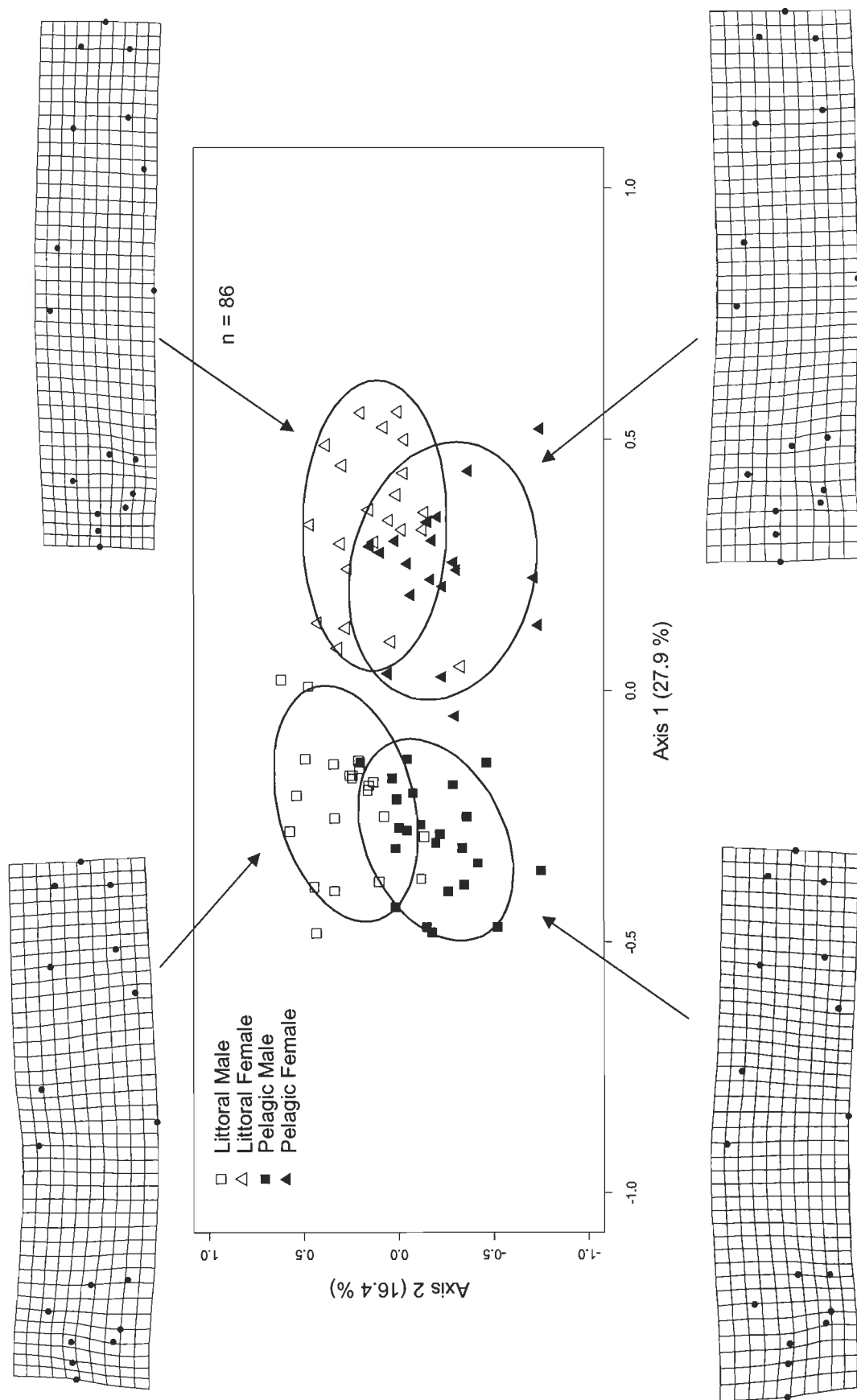


Fig. 14.

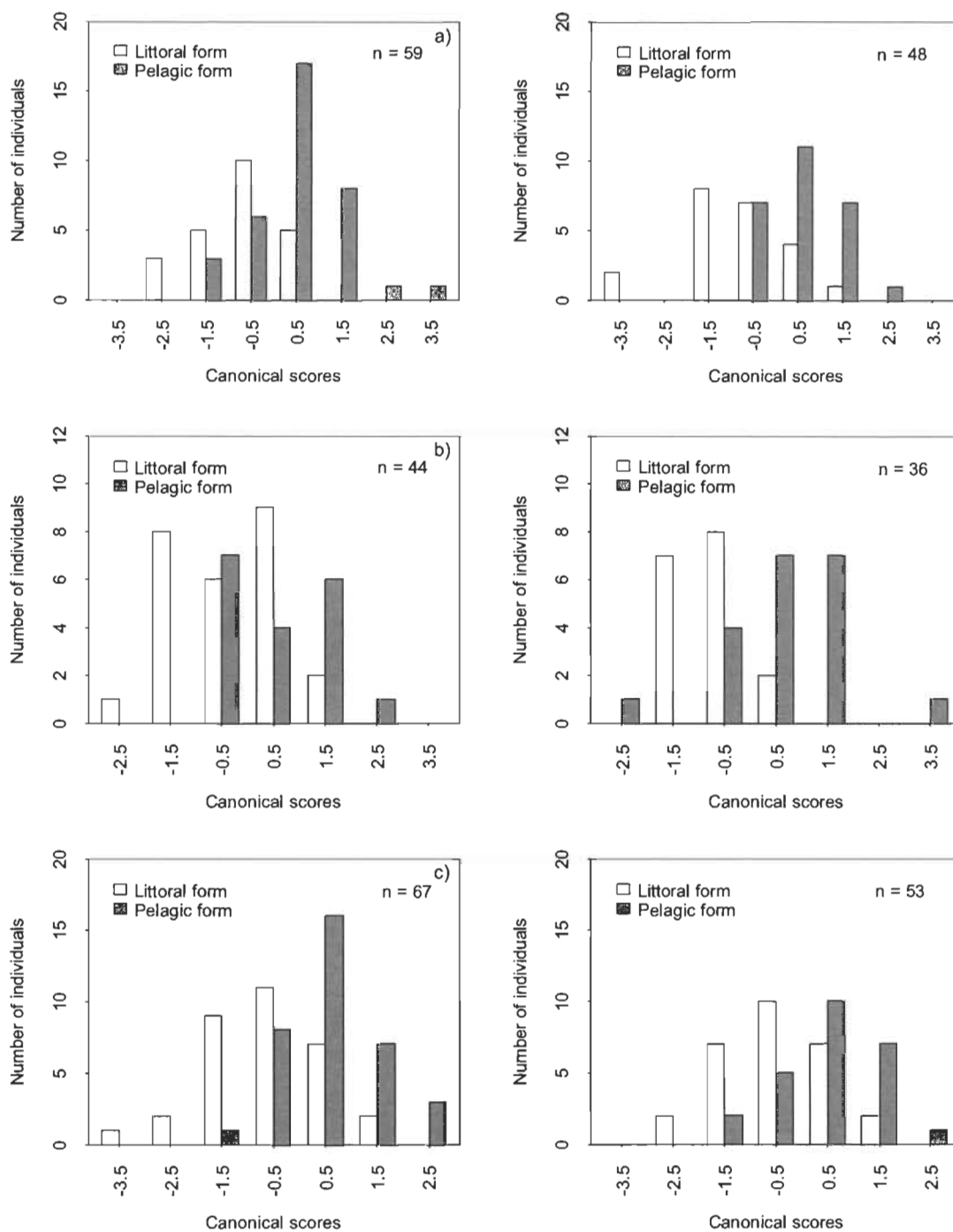


Fig. 15.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams, J. (2005). Habitat thermique estival chez deux formes d'omble de fontaine lacustres (*Salvelinus fontinalis*). Mémoire de maîtrise. Université du Québec à Trois-Rivières.
- Barannikova, I. A., Bayunova, L. V. & Semenkova, T. B. (2004). Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and oestradiol-17 beta in three species of sturgeon during gonadal development and final maturation induced by hormonal treatment. *Journal of Fish Biology* **64**, 1330-1338.
- Bertolo, A., Pépino, M., Adams, J. & Magnan, P. (2011). Behavioural thermoregulatory tactics in lacustrine brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *PLoS ONE* in press.
- Bertrand, M., Marcogliese, D. J. & Magnan, P. (2008). Trophic polymorphism in brook charr revealed by diet, parasites and morphometrics. *Journal of Fish Biology* **72**, 555-572.
- Bond, C. E. (1996). Biology of Fishes. Saunders College Publishing, 750 pages.
- Borg, B. (1994). Androgens in teleost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology* **109**, 219-245.
- Bourke, P., Magnan, P. & Rodriguez, M. A. (1996). Diel locomotor activity of brook charr, as determined by radiotelemetry. *Journal of Fish Biology* **49**, 1174-1185.
- Bourke, P., Magnan, P. & Rodriguez, M. A. (1997). Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. *Journal of Fish Biology* **51**, 783-794.
- Bourke, P., Magnan, P. & Rodriguez, M. A. (1999). Phenotypic responses of lacustrine brook charr in relation to the intensity of interspecific competition. *Evolutionary Ecology* **13**, 19-31.
- Breton, B., Horoszewicz, L., Bieniarz, K. & Epler, P. (1980). Temperature and reproduction in tench: Effect of a rise in the annual temperature regime on gonadotropin level, gametogenesis and spawning. 2. The female. *Reproduction Nutrition Development* **20**, 1011-1024.

Breton, B., Horoszewicz, L., Billard, R. & Bieniarz, K. (1980). Temperature and reproduction in tench: Effect of a rise in the annual temperature regime on gonadotropin level, gametogenesis and spawning. 1. The male. *Reproduction Nutrition Development* **20**, 105-118.

Campbell, N. A. (1995). *Biologie*. ERPI. Saint-Laurent. 1190 pages.

Crim, L. W. (1982). Environmental modulation of annual and daily rhythms associated with reproduction in teleost fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **39**, 17-21.

de Montgolfier, B., Faye, A., Audet, C. & Cyr, D. G. (2009). Seasonal variations in testicular connexin levels and their regulation in the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *General and Comparative Endocrinology* **162**, 276-285.

Dynes, J., Magnan, P., Bernatchez, L. & Rodriguez, M. A. (1999). Genetic and morphological variation between two forms of lacustrine brook charr. *Journal of Fish Biology* **54**, 955-972.

Fischer-Rousseau, L., Chu, K. P. & Cloutier, R. (2010). Developmental Plasticity in Fish Exposed to a Water Velocity Gradient: A Complex Response. *Journal of Experimental Zoology Part B-Molecular and Developmental Evolution* **314B**, 67-85.

Flett, P. A., Munkittrick, K. R., Vanderkraak, G. & Leatherland, J. F. (1991). Reproductive problems in Lake Erie coho salmon. In *Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, A. P. Scott, J. P. Sumpter, D. E. Kime and M. S. Rolfe), 151-153.

Fostier, A., Jalabert, B., Billard, R., Breton, B. & Zohar, Y. (1983). The gonadal steroids. In *Fish Physiology and Biochemistry*, 9. Reproduction, Part A: Endocrine Tissues and Hormones.(W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson), 277-372. Academic Press, Inc.

Frantzen, M., Johnsen, H. K. & Mayer, I. (1997). Gonadal development and sex steroids in a female Arctic charr broodstock. *Journal of Fish Biology* **51**, 697-709.

Gillet, C. (1991). Egg production in an Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) brood stock: Effects of temperature on the timing of spawning and the quality of eggs. *Aquatic Living Resources* **4**, 109-116.

Gillet, C. & Billard, R. (1977). Stimulation of gonadotropin secretion in goldfish by elevation of rearing temperature. *Annales De Biologie Animale Biochimie Biophysique* **17**, 673-678.

Gillet, C. & Quetin, P. (2006). Effect of temperature changes on the reproductive cycle of roach in Lake Geneva from 1983 to 2001. *Journal of Fish Biology* **69**, 518-534.

Janhunen, M., Peuhkuri, N. & Piironen, J. (2009). Morphological variability among three geographically distinct Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) populations reared in a common hatchery environment. *Ecology of Freshwater Fish* **18**, 106-116.

Keller, W. (2007). Implications of climate warming for Boreal Shield lakes: a review and synthesis. *Environmental Reviews* **15**, 99-112.

Kime, D. E. (1993). Classical and non classical reproductive steroids in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **3**, 160-180.

King, H. R. & Pankhurst, N. W. (2000). Ovulation of Tasmanian Atlantic salmon maintained at elevated temperatures: implications of climate change for sustainable industry development. In *Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, B. Norberg, O. S. Kjesbu, G. L. Taranger, E. Andersson and S. O. Stefansson), 396-398. Bergen: John Grieg A/S.

King, H. R., Pankhurst, N. W., Watts, M. & Pankhurst, P. M. (2003). Effect of elevated summer temperatures on gonadal steroid production, vitellogenesis and egg quality in female Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* **63**, 153-167.

Kjesbu, O. S., Righton, D., Kruger-Johnsen, M., Thorsen, A., Michalsen, K., Fonn, M. & Withames, P. R. (2010). Thermal dynamics of ovarian maturation in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **67**, 605-625.

Knudsen, R., Amundsen, P. A., Primicerio, R., Klemetsen, A. & Sorensen, P. (2007). Contrasting niche-based variation in trophic morphology within Arctic charr populations. *Evolutionary Ecology Research* **9**, 1005-1021.

Liley, N. R. & Stacey, N. E. (1983). Hormones, pheromones, and reproductive behavior in fish. In *Fish Physiology*, 9. Reproduction, Part B: Behavior and Fertility Control. (W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson), 1-63. Academic Press, Inc.

Marchand, F. (2000). Facteurs biotiques et abiotiques influençant l'activité et les coûts énergétiques associés à l'alimentation chez les juvéniles (1+) de l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*). Thèse de doctorat. Université du Québec à Montréal.

Marchand, F., Magnan, P. & Boisclair, D. (2003). Differential time budgets of two forms of juvenile brook charr in the open-water zone. *Journal of Fish Biology* **63**, 687-698.

Mattheeuws, A., Genin, M., Detollenaere, A., Micha, J. C. & Mine, Y. (1981). Study of the reproduction of the roach (*Rutilus rutilus*) and on the effects of an elevation in the temperature of the Meuse on that reproduction. *Hydrobiologia* **85**, 271-282.

McCormick, S. D. & Naiman, R. J. (1984). Some determinants of maturation in brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture* **43**, 269-278.

Mellinger, J. (2002). Sexualité et reproduction des poissons. Presses du CNRS. Paris. 349 pages.

Nagahama, Y. (1994). Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *International Journal of Developmental Biology* **38**, 217-229.

Newell, J. C. & Quinn, T. P. (2005). Behavioral thermoregulation by maturing adult sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in a stratified lake prior to spawning. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* **83**, 1232-1239.

Olsson, J. & Eklov, P. (2005). Habitat structure, feeding mode and morphological reversibility: factors influencing phenotypic plasticity in perch. *Evolutionary Ecology Research* **7**, 1109-1123.

Pankhurst, N. W., Purser, G. J., VanDerKraak, G., Thomas, P. M. & Forteach, G. N. R. (1996). Effect of holding temperature on ovulation, egg fertility, plasma levels of reproductive hormones and in vitro ovarian steroidogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **146**, 277-290.

Pottinger, T. G. (1988). Seasonal variation in specific plasma- and target-tissue binding of androgens, relative to plasma steroid levels, in the brown trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology* **70**, 334-344.

Power, G. (1980). The brook charr, *Salvelinus fontinalis*. In *Charrs: Salmonid Fishes of the Genus Salvelinus*, B. E. K. eds), pp. 141-203. The Hague: Dr. W. Junk Publishers.

Proulx, R. & Magnan, P. (2002). Physiological performance of two forms of lacustrine brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in the open-water habitat. *Environmental Biology of Fishes* **64**, 127-136.

Redding, J. M. & Patino, R. (1993). Reproductive Physiology. In *The Physiology of Fishes*, D. H. Evans), 503-534. CRC Marine Science Series.

Robinson, B. W., Wilson, D. S., Margosian, A. S. & Lotito, P. T. (1993). Ecological and morphological differentiation of pumpkinseed sunfish in lakes without bluegill sunfish. *Evolutionary Ecology* **7**, 451-464.

Rocha, M. J. & Rocha, E. (2006). Morphofunctional aspects of reproduction from synchronous to asynchronous fishes: An overview. In *Fish Endocrinology*, Vol. 2. 18.(M. Reinecke, G. Zaccane and B. G. K. eds), pp. 571-624. Science Publishers.

Rohlf, F. J. (2003a). TpsDIG32. (freeware at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).

Rohlf, F. J. (2003b). Tps Relw. (freeware at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).

Rohlf, F. J. (2004). TpsRegr. (freeware at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).

Rouleau, S., Glémet, H. & Magnan, P. (2009). Effects of morphology on swimming performance in wild and laboratory crosses of brook trout ecotypes. *Functional Ecology* 1-12.

Sacotte, S. & Magnan, P. (2006). Inherited differences in foraging behaviour in the offspring of two forms of lacustrine brook charr. *Evolutionary Ecology Research* **8**, 843-857.

Sandlund, O. T., Gunnarsson, K., Jonasson, P. M., Jonsson, B., Lindem, T., Magnusson, K. P., Malmquist, H. J., Sigurjonsdottir, H., Skúlason, S. & Snorrason, S. S. (1992). The Arctic charr *Salvelinus alpinus* in Thingvallavatn. *Oikos* **64**, 305-351.

Skúlason, S. & Smith, T. B. (1995). Resource polymorphisms in vertebrates. *Trends in Ecology and Evolution* **10**, 366-370.

Smith, T. B. & Skúlason, S. (1996). Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes, amphibians, and birds. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **27**, 111-133.

Takemura, A., Rahman, M. S. & Park, Y. J. (2010). External and internal controls of lunar-related reproductive rhythms in fishes. *Journal of Fish Biology* **76**, 7-26.

Tam, W. H., Roy, R. J. J. & Makaran, R. (1986). Ovarian cycle and plasma concentration of estrogen and vitellogenin in brook trout (*Salvelinus fontinalis*, Mitchill). *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* **64**, 744-751.

Tveiten, H., Mayer, I., Johnsen, H. K. & Jobling, M. (1998). Sex steroids, growth and condition of Arctic charr broodstock during an annual cycle. *Journal of Fish Biology* **53**, 714-727.

VanDerKraak, G. & Pankhurst, N. W. (1997). Temperature effects on the reproductive performance of fish. In *Global Warming: Implications for Freshwater and Marine Fish* 61. C. M. Wood and D. G. McDonald), 159-176. Cambridge University Press.

Venne, H. & Magnan, P. (1995). The impact of intraspecific and interspecific interactions on young-of-the-year brook charr, in temperate lakes. *Journal of Fish Biology* **46**, 669-686.

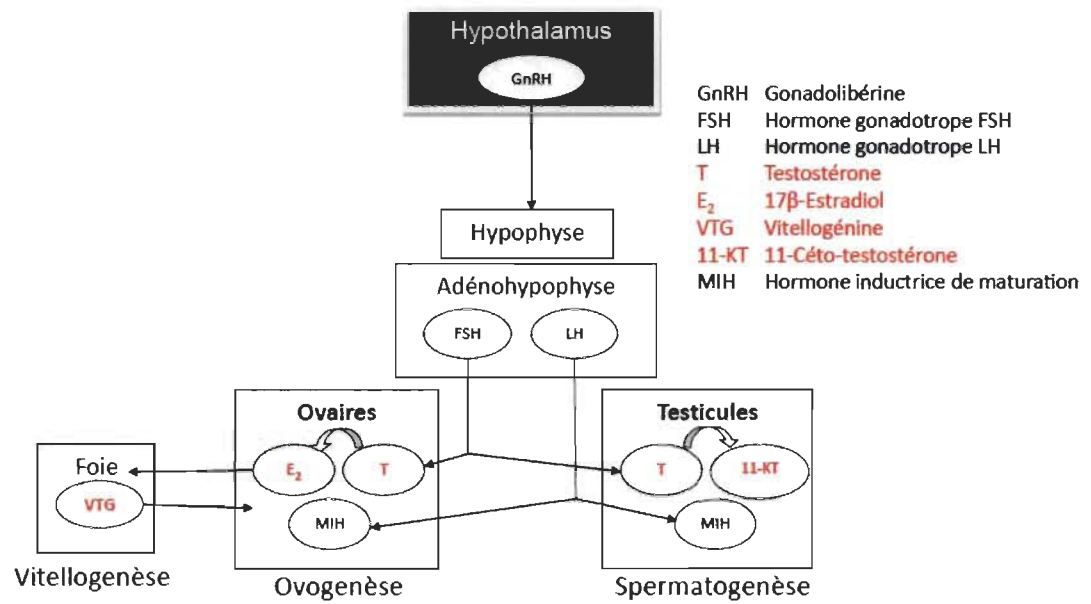
Webb, P. W. (1975). Hydrodynamics and energetics of fish propulsion. *Fisheries Research Board of Canada Bulletin* **190**, 1-159.

Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D. & Fink, W. L. (2004). Geometric morphometrics for biologists: A primer. Elsevier Academic Press,

Zieba, G., Fox, M. G. & Copp, G. H. (2010). The effect of elevated temperature on spawning of introduced pumpkinseed *Lepomis gibbosus* in Europe. *Journal of Fish Biology* **77**, 1850-1855.

ANNEXE A

SCHÉMA DE L'AXE HYPOTHALAMUS-HYPOPHYSE-GONADES (ADAPTÉ DE REDDING ET PATINO 1993, YARON ET SIVAN 2006)



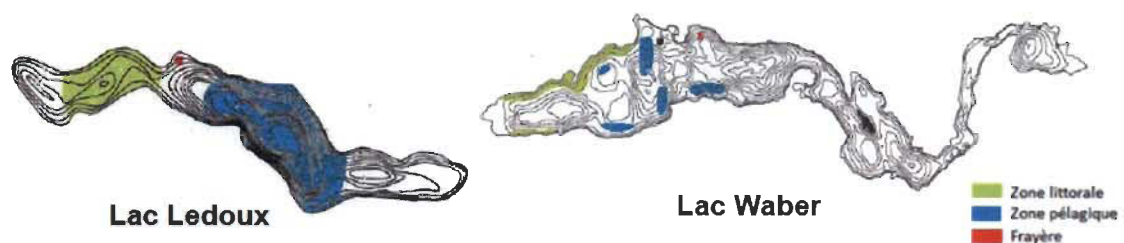
ANNEXE B

SUCCÈS DE PÊCHE PAR ENGIN DE TOUS LES POISSONS CAPTURÉS LORS DE L'ÉTUDE

Engin de pêche	Waber 2009	Waber 2010	Ledoux 2010	Total
Filet monofilament	16	130	224	370
Filet multifilament	43	0	0	43
Verveux	71	35	4	110
Ligne à pêche	53	0	0	53
Trappe Alaska	0	5	4	9
Ligne à pêche ou filet expérimental	15	0	0	15
Verveux ou ligne à pêche	14	0	0	14
Total	212	170	232	614

ANNEXE C

LOCALISATION DES ZONES DE CAPTURE DES OMBLES DE FONTAINE POUR LES LACS WABER (2009-2010) ET LEDOUX (2010)



ANNEXE D

EXEMPLE DU MONTAGE DES SPÉCIMENS POUR LES ANALYSES MORPHOMÉTRIQUES

